

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro Tecnológico
Departamento de Engenharia Química e Engenharia de
Alimentos

EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE CORANTES DE URUCUM

**Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Química do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa
Catarina para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química**

Ricardo Wissmann Alves

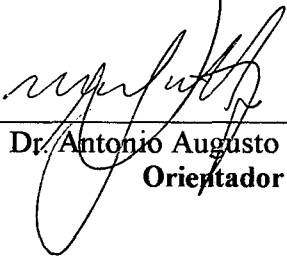
Florianópolis, fevereiro de 2001

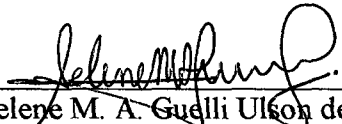
Extração e Purificação de Corantes de Urucum

Por

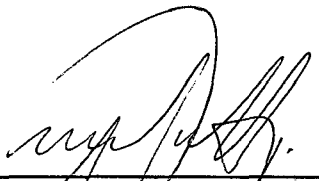
Ricardo Wissmann Alves

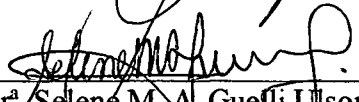
Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Química**, área de concentração **Desenvolvimento de Processos Químicos e Biotecnológicos** e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

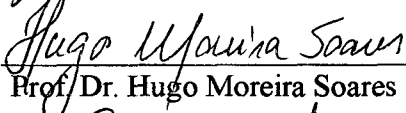

Prof. Dr. Antonio Augusto Ulson de Souza Prof.^a. Dr.^a. Selene M. A. Guelli Ulson de Souza
Orientador Co-orientadora

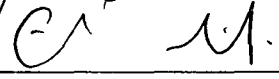

Prof.^a. Dr.^a. Selene M. A. Guelli Ulson de Souza
Coordenadora do CPGENQ

Banca Examinadora:


Prof. Dr. Antonio Augusto Ulson de Souza


Prof.^a. Dr.^a. Selene M. A. Guelli Ulson de Souza


Prof. Dr. Hugo Moreira Soares


Prof.^a. Dr.^a. Edna Regina Amante

Florianópolis, 19 de Fevereiro de 2001

***"É melhor acender uma pequena
vela do que blasfemar contra a
escuridão"***

Confúcio

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza, pela sua paciência, incentivo, orientação e dedicação, e por acreditar que eu poderia realizar o nosso trabalho. Também por sua amizade e pela oportunidade de crescimento através dos conhecimentos à mim passados.

Agradeço também à minha co-orientadora, Prof^a Dr^a Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de Souza pelo auxílio, incentivo, força e amizade e, pela preocupação com meu bem-estar.

Aos professores Dr^a Edna Regina Amante e Dr. Hugo Soares pela participação na banca examinadora, contribuindo para este trabalho.

Aos meus colegas do laboratório – LABMASSA, Jaime Humberto Palacio Revelo, Janaina Lisi Leite, Débora Faria, Antônio Pedro Gomes Cardoso e Michael Bechtold, pela amizade e auxílio e, por terem conseguido me aguentar por tanto tempo. À minha amiga do LABSIN, Heloisa de Lima Brandão pelo seu carinho e atenção.

Um agradecimento especial a Michael Bechtold que teve uma participação especial na realização deste trabalho.

Aos meus colegas de mestrado, Alexandra Fuchter, Audrei Giménez Barañano, Cláudia Terezinha Kniess, Cristiana Gomes de Oliveira, Jean Koepsel, Márcio José

Rossi, Marcos Rabelo e Mires Pelisser, por terem me apoiado e auxiliado nas muitas vezes que precisei e por sempre terem sido amigos.

Às minhas grandes amigas, Cíntia Marangoni, Cláudia Terezinha Kniess, Cristiana Gomes de Oliveira e Vivian Krauss, que sempre estiveram por perto para me alegrar, dar carinho e me socorrer. Vocês fazem parte da minha família!

Em especial à minha grande amiga Cristiana Gomes de Oliveira, que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida nestes dois anos, com seu carinho, alegria e conhecimento. E também pelo seu apoio, em tantos momentos difíceis por que passei. Tu és uma pessoa especial!

Ao meu grande amigo Valério de Souza Michels, pela sua amizade, apoio e incentivo.

Ao Departamento de Engenharia Química, em especial a coordenação de pós-graduação pelo suporte e oportunidades do curso.

Aos professores do Departamento de Engenharia Química que contribuíram para o meu aprendizado e crescimento.

Ao secretário da coordenação do CPGENQ, o amigo Edvilson da Silva, pela sua amizade, atenção, preocupação e auxílio nos mais diversos problemas.

A Agência FINEP/PADCT, que através do financiamento do projeto Purificação do Corante de Urucum (Bixina) – Escala Laboratorial e Piloto – chamada 03-AMPE-01/98-02/01-2, viabilizou os principais equipamentos utilizados no desenvolvimento deste trabalho.

A CAPES, instituição oficial que outorgou a bolsa que permitiu o desenvolvimento deste trabalho.

A todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, José Valdemar e Vanda, por terem sempre me incentivado a estudar e ser uma pessoa íntegra, e, pelo apoio incondicional. Devo muito à vocês. Aos meus irmãos Ruth e Alencar, que sempre torceram por mim.

A Deus, por ter me dado uma nova chance.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
SIMBOLOGIA.....	xvi
LETRAS GREGAS.....	xvii
RESUMO.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 – O Urucum.....	4
2.1.1 – Variedades.....	8
2.2 – Usos e Utilidades.....	8
2.2.1 – Extrato de Urucum.....	9
2.3 – Propriedades dos Pigmentos.....	11
2.3.1 – Estereoquímica.....	15
2.3.2 – Degradação.....	17
2.4 – Processos de Obtenção de Corante de Urucum.....	18
2.4.1 – Processos de Extração Mecânica.....	18
2.4.1.1 – Extração por Atrito.....	19
2.4.2 – Processos de Extração com Solventes.....	20
2.5 – Procedimentos Analíticos Utilizados na Análise da	
Bixina/Norbixina.....	26
2.5.1 – Métodos Espectrofotométricos.....	26
2.5.2 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).....	30
2.5.3 – Cromatografia em Camada Delgada.....	31

2.5.4 – Cromatografia em Papel.....	32
3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1 – Sementes de Urucum.....	33
3.2 – Padrão de Bixina.....	33
3.3 – Reagentes e Materiais Diversos.....	34
3.4 – Equipamentos.....	34
3.5 – Procedimento Experimental.....	35
3.5.1 – Extração do Corante do Ariolo da Semente do Urucum.....	35
3.5.1.1 – Extração por Moinho de Bolas.....	35
3.5.1.2 – Classificação Granulométrica.....	37
3.5.1.3 – Extração por Agitação Mecânica.....	38
3.5.1.4 – Sedimentação do Concentrado de Urucum.....	40
3.5.2 – Projeto do Sedimentador.....	41
3.5.3 – Purificação da Bixina.....	43
3.5.4 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).....	45
3.5.5 – Teor de Bixina nos Extratos.....	46
3.5.6 – Caracterização do Óleo quanto aos Ácidos Graxos.....	47
3.5.7 – Determinação de Bixina na Semente.....	47
3.5.8 – Determinação de Norbixina na Semente.....	48
3.5.9 – Determinação de Umidade.....	49
3.5.10 – Determinação de Cinzas.....	49
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4.1 – Extração Mecânica por Moinho de Bolas.....	51
4.2 – Extração por Agitação Mecânica.....	63
4.2.1 – Extração Utilizando Água.....	63
4.2.1.1 – Sedimentação do Concentrado de Urucum.....	67
4.2.2 – Extração Utilizando Etanol.....	70
4.2.2.1 – Sedimentação do Concentrado de Urucum.....	74
4.2.3 – Análise Comparativa dos Rendimentos Obtidos nos Processos de Extração Investigados.....	76
4.3 – Sedimentador Utilizando Etanol como Solvente.....	78

4.4 – Sedimentador Utilizando Água como Solvente.....	79
4.5 – Análise Espectrofotométrica e Cromatográfica – HPLC.....	80
4.6 – Purificação da Bixina.....	89
4.7 – Extração do Óleo das Sementes.....	98
4.7.1 – Caracterização do Óleo das Sementes.....	100
 5 – CONCLUSÃO E SUGESTÕES.....	 102
 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	 107
 ANEXOS.....	 114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Resultados das Análises Espectroscópicas UV/Visível.....	13
Tabela 2	– Estrutura e Peso Molecular dos Pigmentos das Sementes do Urucum.....	15
Tabela 3	– Desenvolvimento Cronológico.....	16
Tabela 4	– Valores de R _f e R Relativos ao Oil Yellow AB para a Bixina e Compostos Relacionados.....	32
Tabela 5	– Massa Obtida em Cada Fração Granulométrica.....	53
Tabela 6	– Distribuição Percentual Média Mássica das Frações Obtidas no Peneiramento das Sementes <i>A</i>	53
Tabela 7	– Distribuição Percentual Média Mássica das Frações Obtidas no Peneiramento das Sementes <i>B</i>	54
Tabela 8	– Rendimento e Condições de Operação da Extração de Corantes de Urucum com Água.....	64
Tabela 9	– Classificação Granulométrica do Extrato de Urucum Extraído com Agitação Mecânica Usando Água como Fase Líquida – Sementes <i>C</i>	65
Tabela 10	– Efeito do Tempo de Agitação das Sementes <i>C</i> na Extração com Água.....	66
Tabela 11	– Efeito do Tempo de Infusão das Sementes <i>C</i> na Extração com Água e Tempo de Agitação de 2 horas.....	66
Tabela 12	– Efeito do Tempo de Infusão das Sementes <i>D</i> na Extração com Água e Tempo de Agitação de 2 horas.....	66
Tabela 13	– Altura do Espessado em Função do Tempo para Sedimentação do Extrato de Urucum em Água.....	68
Tabela 14	– Rendimento e Condições de Operação da Extração de Corantes de Urucum com Etanol.....	71
Tabela 15	– Efeito do Tempo de Agitação das Sementes <i>D</i> na Extração com Etanol.....	72
Tabela 16-A	– Efeito do Tempo de Infusão das Sementes <i>C</i> na Extração com Etanol e Tempo de Agitação de 0,5 horas.....	73

Tabela 16-B – Efeito do Tempo de Infusão das Sementes <i>D</i> na Extração com Etanol e Tempo de Agitação de 0,5 horas.....	73
Tabela 16-C – Efeito do Tempo de Infusão das Sementes <i>D</i> na Extração com Etanol e Tempo de Agitação de 2 horas.....	73
Tabela 17 – Altura do Espessado em Função do Tempo para Sedimentação do Extrato de Urucum em Etanol.....	74
Tabela 18 – Absorbâncias Máximas dos Espectros das Figuras 34 a 38.....	84
Tabela 19 – Comparativo dos Percentuais de Norbixina das Análises Cromatográficas e Espectrofotométricas.....	89
Tabela 20 – Parâmetros do Processo de Extração do Óleo das Sementes de Urucum – Sementes <i>A</i>	99
Tabela 21 – Composição em Ácidos Graxos do Óleo das Sementes.....	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– O Urucuzeiro com suas Cápsulas.....	5
Figura 2	– Cápsulas e Flores do Urucuzeiro.....	5
Figura 3a	– Corte Longitudinal de uma Cápsula de Urucum.....	6
Figura 3b	– Cachopa de Cápsulas Secas de Urucum.....	6
Figura 4	– Estrutura Molecular da Bixina.....	10
Figura 5	– Estrutura Molecular da Norbixina.....	10
Figura 6	– Estrutura Química dos Pigmentos do Urucum, FRANCIS (1987)	14
Figura 7	– Estrutura Molecular da <i>cis</i> -bixina.....	16
Figura 8	– Estrutura do Pigmento Amarelo C ₁₇ (C ₁₇ H ₂₀ O ₄).....	27
Figura 9a	– Representação da Vista Interna de um Moinho de Bolas Carregado com Sementes de Urucum.....	36
Figura 9b	– Vista Frontal do Moinho Fechado.....	36
Figura 10	– Classificador por Série de Peneiras.....	37
Figura 11	– Agitador Mecânico.....	39
Figura 12	– Ensaio de Sedimentação da Suspensão de Concentrado de Urucum.....	41
Figura 13	– Determinação Gráfica de <i>C</i> e <i>u</i> pelo Método de Kynch.....	43
Figura 14	– Equipamento Utilizado no Processo de Purificação do Concentrado de Urucum.....	44
Figura 15	– Concentração de Norbixina nos Extratos de Urucum Obtidos Mecanicamente.....	55
Figura 16	– Relação entre Tempo de Residência das Sementes no Moinho de Bolas e Distribuição Granulométrica Mássica das Sementes <i>A</i>	56
Figura 17	– Relação entre Tempo de Residência das Sementes no Moinho de Bolas e Distribuição Granulométrica Mássica das Sementes <i>B</i>	57
Figura 18	– Percentual de Norbixina em Relação à Massa de Sementes em Função do Tempo de Residência no Moinho de Bolas (Sementes <i>A</i>).....	58
Figura 19	– Percentual de Norbixina em Relação ao Percentual Mássico das Frações Granulométricas em Função do Tempo de Residência no Moinho de Bolas (Sementes <i>A</i>).....	59

Figura 20	– Percentual de Norbixina em Relação à Massa de Sementes em Função do Tempo de Residência no Moinho de Bolas (Sementes <i>B</i>)	59
Figura 21	– Percentual de Norbixina em Relação à Massa de Sementes em Função do Tempo de Residência no Moinho de Bolas para cada Faixa Granulométrica (Sementes <i>B</i>)	60
Figura 22	– Distribuição Granulométrica Percentual em Função do Percentual de Norbixina dos Extratos Obtidos por Extração Mecânica (Sementes <i>A</i>) por Tempo de Extração.....	61
Figura 23	– Distribuição Granulométrica Percentual em Função do Percentual de Norbixina dos Extratos Obtidos por Extração Mecânica (Sementes <i>B</i>) por Tempo de Extração.....	62
Figura 24	– Concentração de Norbixina nos Extratos de Urucum Extraídos com Água – Sementes <i>C</i>	65
Figura 25	– Altura do Espessado de Concentrado de Urucum versus Tempo do Ensaio 1.....	69
Figura 26	– Altura do Espessado de Concentrado de Urucum versus Tempo do Ensaio 2.....	69
Figura 27	– Altura do Espessado de Concentrado de Urucum versus Tempo do Ensaio – Infusão Prévia de 4 horas em Água.....	70
Figura 28a	– Altura do Espessado de Concentrado de Urucum versus Tempo do Ensaio 1.....	75
Figura 28b	– Altura do Espessado de Concentrado de Urucum versus Tempo do Ensaio 2.....	75
Figura 29	– Comparativo dos Percentuais de Norbixina nos Extratos.....	77
Figura 30	– Comparativo dos Percentuais de Rendimento de Extração.....	77
Figura 31	– Espectro de Absorção do Padrão de Bixina em Solução de NaOH 0,1N.....	81
Figura 32	– Espectro de Absorção de Extrato Concentrado Proveniente da Extração das Sementes <i>D</i> com Etanol com Agitação de 30 Minutos.....	81

Figura 33	– Espectro de Absorção de Extrato Concentrado Proveniente da Extração das Sementes <i>D</i> com Água com Infusão de 1 hora e Agitação de 2 horas.....	82
Figura 34	– Espectro de Absorção de Extrato Concentrado Proveniente da Extração das Sementes <i>C</i> com Etanol com Infusão de 30 minutos e Agitação de 30 minutos.....	82
Figura 35	– Espectro de Absorção de Extrato Concentrado Proveniente da Extração das Sementes <i>C</i> com Água com Infusão de 4 horas e Agitação de 2 horas.....	83
Figura 36	– Espectro de Absorção das Sementes <i>D</i> em solução de KOH 0,5%.....	83
Figura 37	– Cromatograma do Padrão de Bixina em Metanol:Água:Ácido Acético (87:12:1) a 300 ppm.....	85
Figura 38	– Cromatograma de Extrato de Urucum com Granulometria entre 100 e 250 Mesh Extraído pelo Moinho de Bolas das Sementes <i>C</i> em Metanol:Água:Ácido Acético (87:12:1) a 300 ppm.....	85
Figura 39	– Cromatograma de Extrato de Urucum com Granulometria entre 100 e 250 Mesh Extraído pelo Moinho de Bolas das Sementes <i>A</i> em Metanol:Água:Ácido Acético (87:12:1) a 2000 ppm.....	86
Figura 40	– Cromatograma de um Concentrado de Extrato de Urucum em Metanol:Água:Ácido Acético (87:12:1) a 300 ppm.....	86
Figura 41	– Cromatograma do Padrão de Bixina em Tetrahidrofurano:Água (58:42) a 40 ppm.....	87
Figura 42	– Cromatograma de Extrato de Urucum com Granulometria entre 100 e 250 Mesh Extraído pelo Moinho de Bolas das Sementes <i>C</i> em Tetrahidrofurano:Água (58:42) a 100 ppm.....	88
Figura 43	– Padrão de Bixina.....	91
Figura 44	– Amostra Purificada de Extrato de Sementes <i>A</i> e <i>B</i> entre 100 e 250 Mesh.....	92
Figura 45	– Micrografia Ótica da Amostra de Extrato de Sementes <i>A</i> e <i>B</i> entre 100 e 250 Mesh.....	92
Figura 46	– Micrografia Ótica da Amostra Purificada de Extrato de Sementes <i>A</i> e <i>B</i> entre 100 e 250 Mesh.....	93

Figura 47	– Micrografia Eletrônica de Varredura do Extrato de Urucum.....	93
Figura 48	– Micrografia Eletrônica de Varredura da Amostra Purificada do Extrato de Urucum.....	95
Figura 49	– Rendimento da Extração do Óleo das Sementes de Urucum – Sementes A.....	99
Figura 50	– Composição em Ácidos Graxos da Amostra de Óleo de Sementes de Urucum.....	100

SIMBOLOGIA

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	=	coeficiente de extinção molar
A	=	absorbância lida pelo espectrofotômetro
B	=	massa da amostra para cálculo de cinzas (g)
C	=	concentração da suspensão na zona limite (Kg/m^3)
C_0	=	Concentração de alimentação (kg/m^3)
C_A	=	Concentração de sólidos na suspensão alimentada no sedimentador (Kg/m^3)
C_E	=	Concentração da lama espessada (Kg/m^3)
d_c	=	diâmetro da célula de medida (cm)
d_i	=	volume da alíquota para a diluição (mL)
L	=	comprimento do tanque de agitação (cm)
m	=	massa da amostra (g)
M	=	massa de cinzas (g)
M_{as}	=	massa de sementes (g)
N	=	rotação do moinho de bolas (rpm)
N	=	massa de umidade (g)
P	=	massa da amostra para cálculo de umidade (g)
Q_A	=	vazão volumétrica da suspensão alimentada no sedimentador (m^3/h)
R	=	raio do moinho de bolas (cm)
r	=	raio do tanque de agitação (cm)
R_i	=	rendimento da extração por faixa granulométrica (%)
R_T	=	rendimento total da extração (%)
S	=	área de sedimentação, seção transversal do sedimentador (m^2)
u	=	velocidade de sedimentação na zona limite (m/h)
V	=	volume inicial de extração (mL)
V_i	=	volume de diluição (mL)
V_T	=	volume total (mL)
X	=	percentual de norbixina em massa
Z	=	altura da lama espessada na zona limite (m)
Z_0	=	altura inicial da suspensão (m)
Z_i	=	altura da suspensão no tempo θ_i (m)

LETRAS GREGAS

θ = tempo de sedimentação (min)

RESUMO

A restrição ao uso de corantes sintéticos na indústria alimentícia é uma tendência mundial demonstrada hoje em dia pelo mercado globalizado e pelas restrições impostas pela Organização Mundial de Saúde, levando ao interesse de se substituir estes corantes pelos naturais. O urucum é um dos principais corantes naturais para alimentos utilizado mundialmente, e o seu principal pigmento é o carotenóide bixina, que representa mais de 80% dos carotenóides totais contidos no ariolo da semente. A norbixina é um ácido dicarboxílico, produto da hidrólise da bixina, sendo hidrosolúvel. Os objetivos deste trabalho foram a extração e purificação dos corantes de urucum. Para a extração foram investigados o processo de extração mecânica utilizando moinho com bolas de alumina e o processo de extração por agitação mecânica, utilizando água e etanol como fases líquidas. Vários parâmetros destes processos de extração foram investigados, como o rendimento total, concentração dos extratos expressos em teor de norbixina, tempo de processo, faixa granulométrica, efeito do tempo de infusão das sementes e sedimentação nos processos de agitação mecânica. Para a purificação dos extratos obtidos nos processos de extração, foi utilizado um processo de solubilização do extrato em solução de NaOH e precipitação com solução de HCl, e outro processo que envolveu a solubilização a quente do extrato em ácido acético glacial e posterior cristalização. Pelos resultados obtidos, o processo de extração por agitação mecânica utilizando etanol como fase líquida foi o que apresentou o melhor desempenho para aplicação em processo industrial. Nos processos de purificação dos extratos de urucum, o emprego do processo utilizando ácido acético glacial mostrou-se a melhor rota para a obtenção do produto com elevados teores de bixina.

ABSTRACT

Restrictions to the utilization of synthetic dyes in the food industry is nowadays, a worldwide tendency demonstrated for the globalized market and, for the imposed restrictions of the World Health Organization, leading to the interest in replacing these dyes for the natural ones. Annatto is one of the main natural dyes used in food worldwide, and its main pigment is the carotenoid bixin which represents more than 80% of the total carotenoids found in the outer coat of the seed. Norbixin is a dicarboxylic acid resultant of bixin hidrolisis, being hydro-soluble. The goals of this work were the extraction and purification of annatto dyes. The extraction processes were investigated using both a mechanical process utilizing an alumina balls mill and mechanical shaking extraction utilizing water and ethanol as liquid phases. Several parameters of these extraction processes were investigated, such as, total yield, extracts concentration expressed in norbixin content, process time, granular range, effect of the seeds infusion time and effect of the sedimentation in mechanical shaking processes. To purify the extracts obtained in the extraction processes, it utilized a process which consists in solubilizing the extract in a NaOH solution and further precipitation with a HCl solution, and another process where the extract is solubilized in boiling glacial acetic acid and further crystallization. According to the obtained results, the mechanical shaking process utilizing ethanol as liquid phase, presented the best performance for industrial application. In purification processes of annatto extracts, the process utilizing glacial acetic acid, has shown to be the best route to obtain a product with high content of bixin.

1 – INTRODUÇÃO

O urucum é um dos principais corantes naturais para alimentos utilizado mundialmente, tendo sua aplicação em queijos, manteigas, margarinas, salsichas, sorvetes, refrigerantes, carnes, etc. Além desta aplicabilidade na indústria alimentícia, vários outros segmentos utilizam este corante, como no tingimento de tecidos, para dar cores aos vernizes, em rações para aves, na medicina e em cosméticos. O óleo produzido dos grãos também é utilizado no revestimento de frutos para conferir uma melhor apresentação e conservação.

O principal pigmento do urucum é o carotenóide bixina, e representa mais de 80% dos carotenóides totais. É encontrado na camada externa da semente. A norbixina é um ácido dicarboxílico, produto da hidrólise da bixina. Estes compostos são muito polares e são úteis em produtos à base de água. Sua tonalidade varia entre o amarelo e o vermelho.

A bixina apresenta instabilidade, sofrendo degradação quando exposta a certas condições de temperatura, luz e ar. Em determinados processos de secagem pode ocorrer oxidação e reações de isomerização levando a degradação. A temperatura do

processo de extração dos pigmentos é a principal responsável pelo balanço vermelho/amarelo da coloração.

A tendência demonstrada hoje em dia pelo mercado globalizado, em restringir o uso de corantes sintéticos em alimentos e as restrições impostas pela Organização Mundial de Saúde, tem levado a indústria e pesquisadores ao interesse por materiais naturais, em particular os vegetais, que são usados como corantes. O Brasil é considerado o terceiro mais importante exportador mundial de sementes de urucum, depois do Peru e Kenia, contudo a qualidade do produto brasileiro no mercado internacional é considerada baixa.

Os corantes de urucum são obtidos por processos mecânicos através de atrição e raspagem das sementes ou por extração com solventes. Em todos os processos, deve-se evitar a degradação dos corantes para que se preserve as características naturais.

Os objetivos do presente trabalho foram a extração dos corantes de urucum utilizando um processo mecânico, que envolveu a atrição das sementes em um moinho de bolas de alumina, a extração por agitação mecânica utilizando duas fases líquidas separadamente (etanol e água), a variação destes processos, o projeto de um sedimentador para os processos de extração por agitação mecânica e a purificação dos extratos obtidos.

Nos processos de extração mecânica, os seguintes parâmetros foram investigados: rendimento total da extração, classificação granulométrica do extrato obtido, rendimento da extração por faixa granulométrica, concentração de bixina nas

diversas frações granulométricas obtidas, rendimento expresso em percentual de norbixina por fração granulométrica, tempo de operação do moinho de bolas e tempo de estocagem das sementes.

Nos processos de extração com agitação mecânica e uso de solventes, os seguintes parâmetros foram investigados: rendimento total da extração, classificação granulométrica do extrato obtido, rendimento da extração por faixa granulométrica, concentração de norbixina nas faixas granulométricas, tempo de agitação, tempo de sedimentação e concentração do espessado e o efeito do tempo de infusão das sementes na fase líquida.

Na etapa de purificação do concentrado de urucum obtido no processo de extração, diversos procedimentos foram empregados, sendo obtido um produto cristalizado com teor de norbixina equivalente ao teor do padrão de bixina utilizado como referência nas análises realizadas. Os teores de bixina/norbixina foram avaliados através de métodos espectrofotométricos e cromatográficos.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - O Urucum

O urucum (*Bixa orellana L.*) é uma planta da família das Bixáceas. O arbusto é originário da América Tropical, podendo atingir alturas entre 2 e 6 metros. Tem folhas codiformes, pontudas e dentadas. Suas grandes flores são hermafroditas de cor azul róseo, com cinco pétalas nas extremidades dos galhos, formando fascículos; deles nascem cápsulas ovóides (cachopas) com dois ou três carpelos cobertos de espinhos flexíveis, contendo cada uma em média 54 sementes rodeadas de polpa mole, tenaz, vermelha, que constitui o pigmento propriamente dito. As cápsulas são bi ou trivalvares e cada uma traz uma placenta linear no centro.

As folhas são caducas, caindo anualmente após a grande colheita (setembro – outubro). As Figuras 1, 2 e 3 mostram o urucuzeiro, suas cápsulas e flores, o corte de uma cápsula e cápsulas secas, respectivamente (BALIANE, 1982).



Figura 1 – O Urucuzeiro com suas Cápsulas



Figura 2 – Cápsulas e Flores do Urucuzeiro

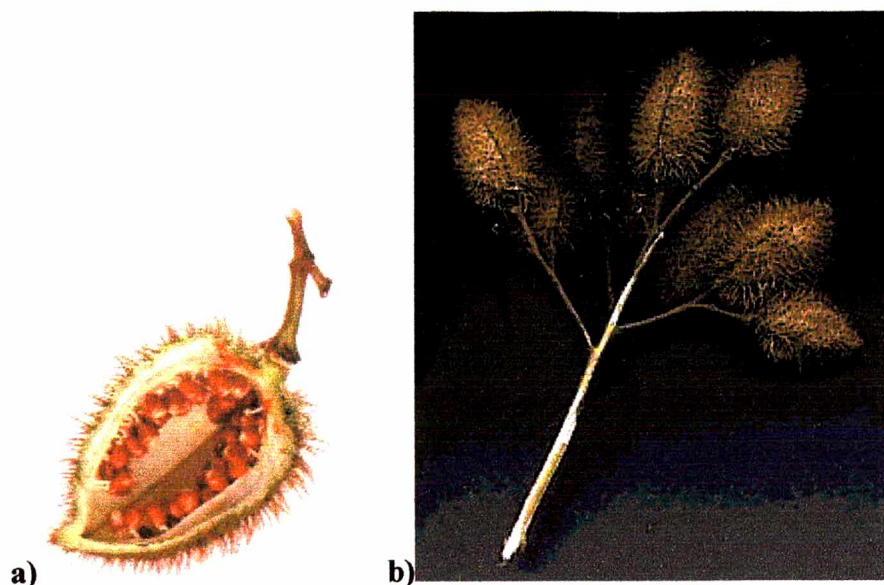


Figura 3 – a) Corte Longitudinal de uma Cápsula de Urucum; b) Cachopa de Cápsulas Secas de Urucum

A frutificação se inicia a partir do segundo ano; no terceiro, a produção já é considerada comercializável.

A colheita é feita manualmente, quando as cachopas se encontram secas no próprio pé. Existem dois períodos de colheita: um em março (safrinha) e outro em agosto/setembro (quando se dá a maior força da produção).

Na colheita, são usadas tesouras de podas ou podões, que cortando os galhos, retiram a inflorescência, contendo entre 15 e 20 cachopas. Estas, após colhidas, são levadas em balaio para terreiros ou depósitos, onde depois da secagem são imediatamente beneficiadas em máquinas fabricadas para tal fim. Essas máquinas separam as cachopas das sementes e as classificam para posteriormente serem embaladas em sacos de polietileno ou de estopa, onde se conservam por mais de cinco anos em perfeitas condições, sem nenhum tratamento fitossanitário. A máquina

descachopadeira, movida a motor de 5 Hp, por exemplo, pode beneficiar até 200 sacos por dia.

O urucuzeiro pode viver até 50 anos, sendo de 30 a sua vida útil econômica (BALIANE, 1982).

O cultivo do urucum vem sendo desenvolvido de forma empírica, quase sempre prevalecendo a experiência adquirida do produtor rural. Existem, no entanto, plantações organizadas no país, mas que não se fundamentam em resultados de pesquisa (FALESI, 1987).

A planta, devido à sua ampla distribuição geográfica, é responsável por mais de 50 nomes diferentes, conforme CARVALHO *et al.* (1989). No Brasil, é conhecida como urucu, urucum, urucu-uva, urucu-bravo, açafoa e bixa, e por nomes indígenas como ahitê, nukirê, bixe e bichá. Na América espanhola, a planta é conhecida como achioté, anoto, achote, onotto, onotillo, roekoe, schirabaeli, koessewee, koesowe, bija, cacicuto, uruca, achiotillo, arnotto, arnolta, roucou, chancaguarica, kuxub, achihuiti, achiti, shambu, huantura, atta, santo Domingo, analto e guajachote.

Na Espanha é conhecido como bija, na França como rocouyer e o produto como rocou. Na Alemanha como orlensbaum. Na Itália, Inglaterra e Estados Unidos como annatto; em Angola, como kisafu ou diteque e na Índia, como lathan ou kolssewil.

Neste trabalho a planta será denominada como urucuzeiro e a semente por urucum.

2.1.1 - Variedades

São conhecidas, hoje, diversas variedades, entretanto, as mais comuns são: Focinho de rato, Cabeça de moleque, Peruana e Wagner. Esta última apresenta vantagens sobre as demais; além de possuírem suas cachopas indeiscentes (não se abrem ao secar no pé) são trivalvares, tendo em média 104 sementes por cachopa, ou seja, o dobro das demais variedades nativas conhecidas (BALIANE, 1982).

2.2 - Usos e utilidades

O objetivo final da cultura do urucuzeiro é a extração dos corantes bixina e norbixina. A bixina de coloração variando de vermelha à castanho avermelhada é lipossolúvel e a norbixina de coloração castanho-avermelhado a castanho, é hidrossolúvel (FALESI, 1987).

A utilização industrial é dada sob a forma de:

Colorau – obtido através da mistura do pó pigmentoso de urucum com fubá, este na proporção de 90%. É usado como condimento caseiro.

Óleo – produzido dos grãos, após a extração do pigmento e usado na composição de vários produtos industriais, um deles empregado no revestimento das laranjas, para lhes conferir melhor apresentação e conservação.

Pasta, pó solúvel e oleosos – na indústria, são usados para tingir tecidos, nas cores amarela, alaranjada e vermelha forte, e também para avivar e modificar certas tintas. São usados, ainda, para dar cores aos vernizes, às graxas animais – especialmente

queijos, manteigas, margarinas e salsichas – aos sorvetes, picolés e refrigerantes, bem como às bebidas alcoólicas e carnes em geral.

Rações para aves em postura – o grão triturado do urucum entra na proporção de 0,8% nas rações avícolas, pois o caroteno influencia a pigmentação da casca e da gema dos ovos.

Medicina – como antidiarréico, antifebril. As sementes são reputadas como estomáticas e tonificantes do aparelho gastrointestinal. A massa do urucum é usada eficazmente nas queimaduras, evitando formação de bolhas.

Cosméticos – na fabricação de pós faciais, esmaltes, batons e creme bronzeador da pele (BALIANE, 1982).

2.2.1 - Extrato de Urucum

O extrato de urucum é conhecido como um dos mais antigos corantes, utilizado desde a antiguidade para a coloração de alimentos, têxteis e cosméticos. Tem sido utilizado nos Estados Unidos e Europa por cerca de 100 anos como um aditivo de cor a manteigas e queijos.

O principal princípio de corante encontrado nos extratos de óleo ou gordura das sementes de urucum é o carotenóide bixina, indexado com o número 75120 EEC No E 160b, que é o monometiléster do ácido dicarboxílico norbixina (WHO/FAO, 1976). A estrutura molecular destes compostos é apresentada nas Figuras 4 e 5.

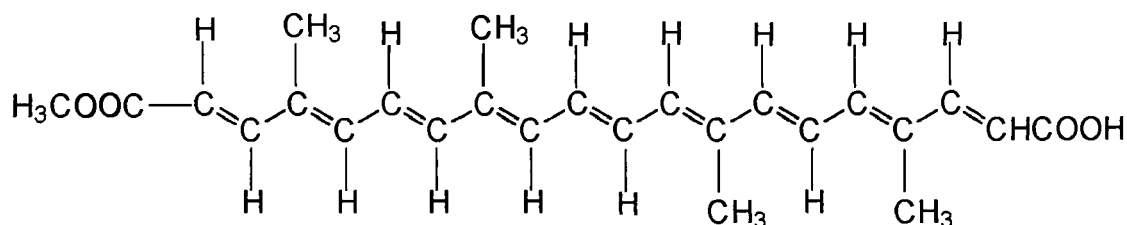


Figura 4 – Estrutura Molecular da Bixina: $C_{25}H_{30}O_4$ (pm 394,51)

O maior corante em extratos aquosos alcalinos é a norbixina:

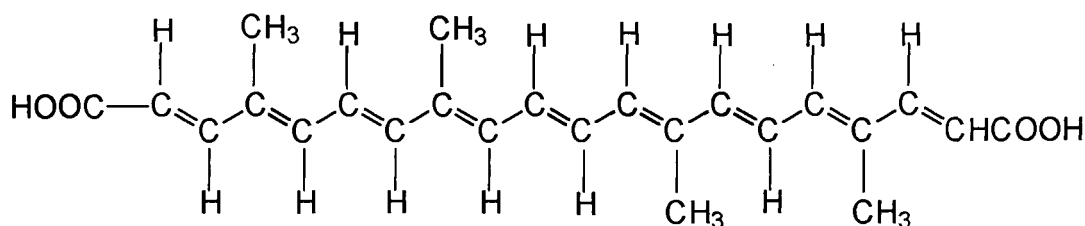


Figura 5 – Estrutura Molecular da Norbixina: $C_{24}H_{28}O_4$ (pm 380,48)

O extrato de urucum é vendido em diversas formas físicas, incluindo pó seco, emulsões de propilenoglicol/monoglicerídeos, soluções e suspensões de óleo e soluções aquosas alcalinas contendo de 0,1 a 30% de corante ativo calculado como bixina ou norbixina, como apropriado. É utilizado em produtos a níveis de 0,5 a 10 ppm como cor pura, resultando em tonalidades que variam do amarelo manteiga ao pêssego, dependendo do tipo de preparação de cor empregado e a coloração do produto.

O comportamento químico do extrato de urucum é essencialmente o da bixina, um material cristalino vermelho-marrom que se funde a 198° C. É moderadamente estável à luz e tem boa estabilidade frente à oxidação, mudança de pH e ataque microbiano. A bixina é muito estável até temperaturas de 100 °C, sendo pouco estável a

temperaturas de 100 a 125 °C, onde tende a formar o ácido 13-carbometoxi-4,8-dimetiltridecahexano-oico (HANDBOOK OF U. S. COLORANTS, 1991).

2.3 - Propriedades dos Pigmentos

O teor de pigmentos presentes nas sementes do urucum varia de acordo com a variedade da cultura, do solo, do clima e dos tratos culturais, podendo encontrar sementes com menos de 1% e até com mais de 4% de bixina. A norbixina, também proveniente das sementes do urucum, tem poder de coloração similar à bixina e é o pigmento natural mais usado no Brasil, cerca de 80% do consumo. A conversão da bixina em norbixina é feita pela diluição da bixina em meio alcalino, que após a separação e secagem é comercializada na forma de pó ou pasta (CARVALHO, 1989).

CASTRO (1992) e FARIA (1998) fizeram uma compilação das propriedades dos extratos das sementes do urucum apresentadas por vários autores, comitês e organismos internacionais de controle de aditivos em alimentos e saúde. As propriedades mais importantes são apresentadas a seguir.

Propriedades da bixina: lipossolúvel, solúvel em clorofórmio, acetona, éter etílico, etanol etc. e insolúvel em água; absorbância máxima a 439 nm, 470 nm e 501 nm em clorofórmio e a 526 nm, 491 nm e 457 nm em dissulfeto de carbono; o coeficiente de extinção é $E_{1\text{cm}}^{1\%}(470) = 2826$ em CHCl_3 /10 mg bixina pura; ponto de fusão 198° C; coloração amarela em extrato diluído e vermelha escura em extrato concentrado; instável a luz e a temperaturas acima de 125 °C.

Propriedades da norbixina: hidrossolúvel, insolúvel em álcool, propileno glicol, óleo e gordura; absorbância máxima a 527 nm, 491 nm e 458 nm em dissulfeto de carbono e ponto de fusão de 300 °C. A norbixina é instável na presença de luz e em solução quando se muda o pH.

Propriedades do norbixato de sódio e potássio: solúvel em água, insolúvel em acetona, clorofórmio, éster, óleos e gorduras e moderadamente solúvel em álcool, e tem absorbância máxima a 454 e 482 nm para solução de 0,01% de NaOH.

SCOTTER *et al.* (1994) fizeram análise espectrofotométrica e em cromatografia líquida de alta eficiência em extrato para quantificar os pigmentos das sementes do urucum (*cis* e *trans* bixina e norbixina) e obtiveram os comprimentos de onda máximos, cujos valores encontrados estão de acordo com os propostos por REITH e GELEN (1971) e são apresentados na Tabela 1. Segundo WILBERG e RODRIGUEZ-AMAYA (1992) o método de quantificação dos carotenóides das sementes do urucum por cromatografia líquida de alta eficiência é menos preciso que por espectrofotometria. A quantificação deve ser feita através de padrões puros da bixina e da norbixina.

A *cis*-bixina, cerca de 80% da bixina presente nas sementes do urucum, apresenta uma cor laranja e é insolúvel em água. A forma *cis* é mais instável e converte parcialmente na forma *trans* e no produto amarelo resultante da degradação térmica através de aquecimento no processamento (FRANCIS, 1987 e PRESTON e RICKARD, 1980), porém a forma *cis* pode passar totalmente para a forma *trans* mais estável, quando em solução de clorofórmio na presença de iodo (CARVALHO e HEIN, 1989).

A forma *trans* tem cor vermelha, é estável e é solúvel em óleo (PRESTON e RICKARD, 1980).

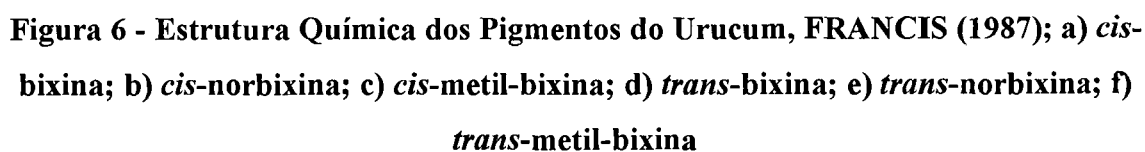
Tabela 1 – Resultados das Análises espectroscópicas UV/Visível

Composto	Solvente	Autor	Comprimento de Onda máximo (nm)	Coefficiente de Extinção ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$)
cis-bixina	CHCl ₃	A	501 e 470	2880 e 3230
cis-bixina	CHCl ₃	B	501 e 470	2773 e 3092
trans-bixina	CHCl ₃	A	507 e 476	2970 e 3240
trans-bixina	CHCl ₃	B	506 e 474	2853 e 3134
cis-norbixina	0,1 M NaOH	A	482 e 453	2550 e 2850
cis-norbixina	0,1 M NaOH	B	481 e 453	2503 e 2818
trans-norbixina	0,1 M NaOH	A	486 e 457	ND
trans-norbixina	0,1 M NaOH	B	487 e 456	ND

A = REITH e GIELEN (1971); B = SCOTTER *et al.* (1994); ND = não possível de determinar devido a baixa solubilidade.

A Tabela 2 mostra as fórmulas moleculares e respectivos pesos moleculares da bixina e da norbixina nas formas *cis* e *trans* e do produto amarelo de degradação e a Figura 6 mostra as estruturas químicas destes compostos e derivados. A bixina é o mono-metil éster de um ácido dicarboxílico de um composto carotenóide; a norbixina é o ácido derivado da hidrólise deste éster e o produto de degradação possui estrutura C₁₇.

A instabilidade dos pigmentos do urucum pela luz, calor e pela oxidação na presença de alguns solventes é objeto de estudo de vários pesquisadores (FARIA, 1998). Estes estudos procuraram explicar o mecanismo da degradação e também tiveram como objetivo estabelecer faixas operacionais para o processamento destes pigmentos.



O extrato de urucum tem uma estabilidade considerável à oxidação pelo ar em meio anidro mas uma resistência mais baixa aos efeitos da luz, os quais são proporcionais à intensidade desta. Um modo para aumentar a persistência da cor sob forte iluminação parece ser a adição de palmitato de ascorbil. A presença de radicais livres ou qualquer promotor dessas espécies em extratos de urucum deve ser evitada, pois estudos indicam que pode ocorrer uma perda rápida de cor sempre que for promovida a formação de radicais livres (NAJAR *et al.*, 1988).

Tabela 2 – Estrutura e Peso Molecular dos Pigmentos das Sementes do Urucum

Nome	Fórmula molecular	Peso Molecular
α -bixina ou <i>cis</i> -bixina	$C_{25}H_{30}O_4$	394
β -bixina ou <i>trans</i> -bixina	$C_{25}H_{30}O_4$	394
α -norbixina ou <i>cis</i> -norbixina	$C_{24}H_{28}O_4$	380
β -norbixina ou <i>trans</i> -norbixina	$C_{24}H_{28}O_4$	380
Produto amarelo de degradação	$C_{17}H_{20}O_4$	288

As diferenças nas propriedades corantes dos extratos de sementes de urucum resultam dos processos de extração, onde há, muitas vezes, a formação de produtos com diferentes tonalidades e solubilidades (CARVALHO e HEIN, 1989).

2.3.1 - Estereoquímica

Desde que a bixina foi o primeiro *cis* polieno a ser reconhecido na natureza, sua estereoquímica tem sido sujeita a muita investigação conforme cronologia dos

principais resultados obtidos apresentados na Tabela 3 (PRESTON & RICKARD, 1980).

Tabela 3 – Desenvolvimento Cronológico

Boussinghault (1825)	Primeiro isolamento
Etti (1878)	Cristalização
Heiduschka & Panzer (1917)	Fórmula molecular: $C_{25}H_{30}O_4$
Herzig & Faltis (1923)	Isomerização
Karrer <i>et al.</i> (1929)	Isômeros <i>cis</i> \rightarrow <i>trans</i>
Kuhn/Ehmann (1929); Kuhn/L'Orsa (1931, 1932); Kuhn/Winterstein (1928, 1932), Kuhn <i>et al.</i> (1929)	Constituição
Karrer & Solmssen (1937)	Estrutura 11- <i>cis</i>
Zechmeister & Escue (1944)	Estrutura 9- <i>cis</i>
Karrer & Jucker (1950)	Estrutura 9- <i>cis</i>
Lunde & Zechmeister (1955)	7- <i>cis</i> para Me-bixina (IR)
Barber <i>et al.</i> (1961)	Pr Me-bixin estrutura 9'- <i>cis</i>
Weedon (1967)	Síntese da Me- <i>cis</i> -(natural) bixina
Pattenden <i>et al.</i> (1970)	Síntese da Me- <i>cis</i> -(natural) bixina

Contudo, 136 anos após a bixina ter sido relatada pela primeira vez, a estrutura da *cis*-bixina foi mostrada ser o metil hidrogênio 9'-*cis*-6,6'-diapocaroteno-6,6'-dioato ilustrado na Figura 7.

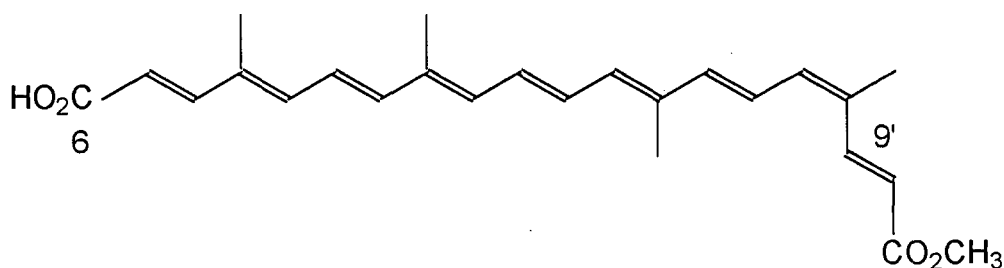


Figura 7 - Estrutura molecular da *cis*-bixina, $C_{25}H_{30}O_4$.

2.3.2 - Degradação

IVERSEN & LAM (1953) mostraram que a bixina dissolvida em óleo vegetal ou outros solventes se submete a séries complexas de isomerizações e degradações quando aquecida a temperaturas de extração. Um pigmento amarelo foi isolado de uma preparação comercial de extrato de urucum. Utilizando o método de cromatografia em papel (McKEOWN, 1961), foi separada uma série de pigmentos a partir do extrato de urucum comercial. Os efeitos do tratamento térmico de um extrato comercial podem ser observados em comparação com o extrato da semente *Bixa Orellana L.*

NAJAR *et al.* (1988), mostraram que o extrato de urucum tem uma estabilidade considerável à oxidação pelo ar em meio anidro mas uma resistência mais baixa aos efeitos da luz, os quais são proporcionais a intensidade da luz.

CARVALHO *et al.* (1993) estudaram a degradação de um corante sólido obtido por extração alcoólica dos pigmentos das sementes de urucum, em embalagens com diferentes taxas de permeabilidade ao oxigênio, a temperatura de 30 °C, por um período de 368 dias, concluindo que materiais de embalagens com taxas de permeabilidade ao oxigênio de até 42 cm³ (CNTP)/m²/dia a 25 °C conferiram adequada proteção ao produto durante um ano de estocagem a 30 °C e 90% UR na ausência de luz. Tal barreira ao oxigênio pode ser obtida com estruturas co-extrudadas ou laminadas de nylon e polietileno de baixa densidade.

2.4 - Processos de Obtenção de Corante de Urucum

Os pigmentos das sementes do urucum podem ser extraídos por processos mecânicos através de atrição e raspagem das sementes e físico-químicos através de solventes, ou ainda, pode ser realizado utilizando enzimas. A extração por solventes pode ser feita por três métodos básicos, extração alcalina (solução de NaOH ou KOH) em que resulta na conversão da bixina em norbixina, extração com óleo (soja, milho) e extração através de solventes orgânicos (clorofórmio, etanol, acetona, propilenoglicol) em que resulta na forma mais pura dos pigmentos. Todas as técnicas devem levar em consideração a degradação destes pigmentos pela luz e calor excessivos.

Os pigmentos do urucum estão localizados no pericarpo da semente, os quais ficam aderidos à superfície por meio de uma resina. Esta característica facilita a extração, pois não é necessário triturar as sementes (SILVA, 1999).

2.4.1 – Processos de Extração Mecânica

GUIMARÃES *et al.* (1989), MASSARANI *et al.* (1992), BARRETO *et al.* (1989) estudaram a produção de um concentrado de bixina através da atrição em leito de jorro e compararam com outros produtos obtidos em processos não aerados, como a betoneira em que obtiveram um concentrado com mais de 20% em bixina. PINHEIRO *et al.* (1990) e SILVA (1991) analisaram a degradação da bixina durante o processamento das sementes do urucum em leito de jorro e compararam com o colorífico produzido com a semente natural e a semente processada.

PASSOS *et al.* (1997) avaliaram a degradação térmica da bixina durante a secagem do extrato de urucum em leitos de jorro, por cromatografia líquida de alta eficiência, constatando que não há uma degradação térmica significativa a temperatura de 50 °C, quando comparada a uma secagem intensiva a temperaturas de 105 °C.

2.4.1.1 – Extração por Atrito

A extração da bixina pode ser realizada com solventes ou por atrito (extração mecânica). Dentro do grupo de metodologias de extração sem o uso de solventes, encontram-se: extração em leito de jorro e extração com moinho de bolas. Na extração em leito de jorro, a simples movimentação das sementes de urucum faz com que os choques entre as mesmas liberem a bixina no fluxo de ar. Já na extração com moinho de bolas, além do atrito entre as sementes, ocorre o atrito entre as bolas e as sementes, fazendo com que o extrato seja liberado. É importante ressaltar que o fraturamento das sementes deve ser evitado uma vez que o corante de interesse está presente no ariolo da semente, película localizada na superfície da mesma, e não no seu interior.

Estudos realizados demonstram que a bixina é facilmente extraída das sementes pelo atrito e impacto das partículas. Esta técnica mecânica pode requerer um tratamento prévio das sementes, no qual estas são secas à uma temperatura baixa preservando a qualidade do pigmento.

MASSARANI *et al.* (1992) e PASSOS *et al.* (1997) desenvolveram um leito de jorro cônico não convencional, onde o processo de secagem das sementes é efetuado juntamente com a extração da bixina. A degradação térmica da bixina no processo de secagem é estudada por BARONCELLI *et al.* (1997). GUIMARÃES *et al.* (1989) também desenvolveram estudos utilizando um leito de jorro cônico, operando com ar à temperatura ambiente e a coleta do pó (concentrado de bixina) efetuada com o auxílio de um ciclone. FARIA e ROCHA (2000) otimizaram a secagem das sementes de urucum em leito de jorro fixo, obtendo um conteúdo de umidade final no intervalo de 5 a 10% em base seca e uma concentração de bixina mais alta que 2,86% em base seca. Estes valores de umidade são recomendados para que se possa manter a qualidade do pigmento.

Um método para a produção de concentrado de urucum a partir de extratos alcalinos aquosos utilizando leito de jorro foi estudado por FREITAS *et al.* (2000). Eles obtiveram um rendimento de 4% na obtenção do extrato concentrado de urucum com concentração menor que 13,3% de bixina, mas com tamanhos de partículas ultra-finas onde o efeito de maior importância no processo foi o decréscimo no conteúdo do pigmento em temperaturas acima de 80 °C.

2.4.2 – Processos de Extração com Solventes

A bixina presente no ariolo da semente de urucum pode ser extraída por meio de solventes orgânicos ou soluções alcalinas. Na literatura são encontrados vários processos de extração de corantes de urucum utilizando diferentes solventes orgânicos

como etanol, acetona, cloreto de etila e outros ((PRENTICE-HERNANDEZ e RUSIG, 1992; SIMPSON *et al.*, 1993; CARVALHO, 1990; PRESTON e RICKARD, 1980).

Vários autores estudaram a extração dos pigmentos das sementes do urucum com solventes. INGRAN e FRANCIS (1969) aplicaram dois métodos para a extração dos pigmentos das sementes do urucum. O primeiro consiste na produção de uma massa através da extração por solvente orgânico seguida de purificação, precipitação e cristalização para obtenção da bixina pura; o segundo refere-se à produção de um concentrado em bixina através da extração com óleo vegetal ou propilenoglicol a 125 °C.

CARVALHO (1990) apresenta dois processos para extração dos pigmentos das sementes do urucum. O primeiro utiliza solventes orgânicos que tenham propriedade de solubilizar a bixina. O segundo utiliza solventes alcalinos para obtenção da norbixina; estes processos permitiram obter um produto concentrado em até 50% em pigmentos do urucum.

PIMENTEL (1995) aplicou a precipitação ácida para purificar os extratos das sementes do urucum obtidos através de hidróxido de potássio 0,1 N e hidróxido de amônia 0,52 N em etanol a 58%. Os produtos purificados apresentaram maiores teores para a extração com hidróxido de amônia e etanol os quais foram obtidos na forma líquida, pasta ou pó.

SILVA *et al.* (1994) estudaram a extração dos pigmentos das sementes do urucum em leito fixo com solventes nos estados líquido e vapor, sendo que o

rendimento da extração foi maior usando solvente com temperatura acima do ponto de ebulição. Testaram vários solventes, sendo que os mais eficientes foram o clorofórmio, a acetona, o éter etílico e o etanol. Nesse trabalho, constataram que abaixo de 80 °C a degradação da bixina pelo calor é desprezível. Verificaram também que na extração dos pigmentos com as sementes trituradas o rendimento não aumentou, além do inconveniente do arraste de impurezas pelo solvente.

PASSOS *et al.* (1997) desenvolveram um método para a produção de extrato de urucum em pó pela secagem de extratos alcalinos aquosos em um leito de jorro. Os resultados mostraram um alto conteúdo de pigmentos encontrados no urucum, comparáveis com aqueles encontrados em produtos comerciais e aqueles obtidos pela atrição em leitos de jorro, conforme MASSARANI *et al.* (1992).

PRENTICE-HERNANDEZ e RUSIG (1992) estudaram a obtenção do extrato de urucum utilizando etanol como solvente e duas fontes de sementes, uma contendo 1,88% de bixina e outra contendo 2,35%, num método simples e de baixo custo, considerando o equipamento e solvente utilizados. Após o processamento, o produto final seco foi obtido com 65,47% de bixina e um rendimento de extração de 4,33% em relação às sementes de mais alta concentração de bixina.

BHALKAR e DUBASH (1983) examinaram vários métodos de extração utilizando água, álcali e solventes orgânicos para verificar as taxas de extração mais altas. Para a extração dos pigmentos na superfície da semente, o uso do carbonato de sódio foi eficiente. A concentração ótima de carbonato de sódio foi de 0,4% e a extração

máxima dos pigmentos foi atingida em cerca de 5 horas de agitação. O hidróxido de sódio deu uma extração de pigmentos totais de 73,9%.

Uma mistura ótima de solvente encontrada foi de 25% de clorofórmio em etanol (v/v) e foi utilizada para extrair os pigmentos das sementes de urucum a várias proporções de sementes versus solvente, para diferentes intervalos de tempo. Tomando os pigmentos totais como 760 mg/100 g de sementes, o percentual de extração dos pigmentos pelo solvente sob diferentes condições mostrou que usando a proporção semente:solvente de 1:1 ou 1:2, somente 45 a 50% dos pigmentos totais foram extraídos em 1 a 3 horas em um agitador giratório. Na proporção semente:solvente de 1:4, 57% dos pigmentos totais foram extraídos na primeira hora e 60% em 2 e 3 horas de agitação. Contudo, se o solvente é retirado após cada hora e substituído pela proporção solvente:sementes de 4:1 com solvente novo, até 76,5% dos pigmentos totais do urucum podem ser obtidos em 3 horas.

Quando 20 g de sementes de urucum foram agitadas com 100 mL de água por 3 horas, 715 mg de pigmentos brutos foram separados. O efeito de abrasão nas camadas superficiais das sementes com 16 a 20 esferas de vidro durante a agitação mostrou-se benéfica. Um aumento de 33% nos pigmentos brutos foi encontrado na proporção de 1:1 no sistema sementes:material abrasivo. Após a decantação das sementes e material abrasivo, o pigmento bruto foi obtido por centrifugação. Contudo, ainda foram encontradas no sobrenadante, quantidades consideráveis de pigmento. Em outro experimento, 20 g de sementes foram colocadas junto com 20 g de material abrasivo de número 16 a 20 e agitadas com 40 mL de água por 3 e 6 horas. O pigmento foi extraído do abrasivo centrifugado e do líquido aquoso sobrenadante com clorofórmio e foi

calculada a concentração do pigmento em mg/100 g de sementes. Nas primeiras 3 horas de abrasão, 14% do pigmento foi perdido na fase aquosa, enquanto que após 6 horas de abrasão, 21% dos pigmentos totais permaneceram na fase aquosa. Dessa forma, este método de extração dos pigmentos do urucum por abrasão tem um inconveniente devido à dificuldade de recuperação dos pigmentos da fase aquosa.

Comparando-se os métodos, BHALKAR e DUBASH (1983) verificaram que pelo método de extração utilizando água, este deu uma extração de cerca de 61% dos pigmentos totais após 6 horas de agitação. Desta forma, este método necessita de bastante tempo e requer muitas operações unitárias. No caso do método utilizando hidróxido de sódio, 74% dos pigmentos são extraídos em 1 hora, mas ainda grandes volumes devem ser manipulados e no final o pigmento tem que ser dissolvido no solvente. O método de extração por solvente dá um máximo de 76% de extração. Este é simples e, portanto, o melhor.

PRESTON e RICKARD (1980) descreveram alguns métodos para extração dos corantes de urucum, descritos a seguir.

Bixina solúvel em óleo:

As sementes de urucum, imersas em óleo vegetal a uma temperatura não excedente a 70 °C, são mecanicamente raspadas para remover o pericarpo do resíduo da semente por um processo conhecido como raspagem. O espessado do pigmento em óleo é aquecido sob vácuo a uma temperatura que não exceda 130 °C. A solução é filtrada

para remover os materiais insolúveis. Os maiores carotenóides incluem a *trans*-bixina, um produto amarelo de degradação térmica e a *cis*-bixina.

Suspensão em óleo:

Existem três métodos importantes, os quais são descritos a seguir:

- a) O extrato do pericarpo em óleo comestível após a raspagem é centrifugado e as partículas mais finas são misturadas com óleo para formar uma suspensão. Quando o tratamento térmico não é usado, o produto amarelo de degradação não é observado, estando presentes neste caso, a *cis*- e *trans*-bixina.
- b) Extração com solvente: O pigmento do urucum é extraído por um solvente adequado, como a acetona por exemplo. O extrato é lavado com hexano ou outro solvente no qual o pigmento é virtualmente insolúvel, para remover as impurezas e odores indesejados. Moendo em óleo comestível para um tamanho de partícula de cerca de 10 microns é então levada a produção de uma suspensão microcristalina em óleo. Os solventes incluem a acetona, diclorometano, etanol, petróleo leve e propan-2-ol. Os maiores carotenóides presentes são a *cis*- e *trans*-bixina.
- c) Extração com mono- e di-glicerídeos, etc: A extração utilizando produtos de nível alimentício tais como os mono- e di-glicerídeos, ácidos graxos livres ou propilenoglicol também é praticada.

Urucum solúvel em água:

- a) A partir da semente: O pericarpo da semente do urucum é extraído por agitação em álcali aquoso a temperaturas que não excedam 70 °C para dar

uma solução aquosa de sais de sódio ou potássio de norbixina, provavelmente na forma *cis* e *trans*.

- b) A partir da bixina extraída por solvente: A bixina, derivada da extração do pericarpo por um ou mais estágios, seguida pela remoção do solvente, é hidrolisada com álcali aquoso para produzir os sais de sódio ou potássio de norbixina.

2.5 – Procedimentos Analíticos Utilizados na Análise da Bixina/Norbixina

A análise dos extratos, conforme PRESTON e RICKARD (1980), a partir de vários processos comerciais mostra os seguintes maiores carotenóides:

Bixina solúvel em óleo { C_{17} – Produto da degradação térmica
trans-bixina
cis-bixina

Suspensão de bixina em óleo { cis-bixina + alguma trans-bixina

Bixina extraída com solvente { cis-bixina + alguma trans-bixina

Extratos solúveis em água:

a) Extrato da semente aquoso de álcali
b) Hidrólise em álcali aquoso da bixina
Extraída com solvente { cis- e trans-norbixina (sais de Na ou K)

2.5.1 – Métodos Espectrofotométricos

A bixina e seus isômeros tem uma absorbância máxima a cerca de 500 nm e 470 nm em clorofórmio, enquanto que os pigmentos de degradação amarelos apresentam

uma absorbância máxima a cerca de 404 nm e 428 nm (em clorofórmio) e não absorvem a 500 nm (McKEOWN e MARK, 1962).

Análises do espectro a 500 nm e 404 nm podem determinar ambos o conteúdo total de pigmentos e o conteúdo de bixina do extrato (McKEOWN e MARK, 1962; REITH e GIELEN, 1971).

McKEOWN (1965) determinou a estrutura do pigmento amarelo C_{17} produzido pela degradação térmica da bixina C_{25} , como mostrado na Figura 8.

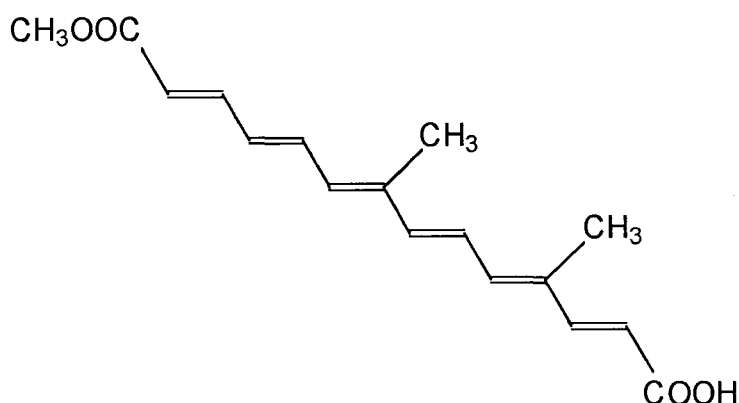


Figura 8. Estrutura do Pigmento Amarelo C_{17} ($C_{17}H_{20}O_4$).

De acordo com CARVALHO e HEIN (1989), a bixina apresenta picos máximos de absorção em clorofórmio a 469-470 e 501-503 nm.

YABIKU e TAKAHASHI (1992) descreveram métodos para a determinação de bixina e norbixina. Para a determinação de bixina, utilizaram clorofórmio como solvente, leitura a 470 nm e para o cálculo da concentração utilizaram o coeficiente de extinção $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2826$. Para a determinação de norbixina, utilizaram soluções de

hidróxido de potássio a 5% e 0,5%, leitura a 423 nm e para o cálculo da concentração $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 3473$. O percentual encontrado de norbixina pode ser expresso como bixina multiplicando-se pelo fator de 1,037.

KATO *et al.* (1992) utilizaram um método para determinação de bixina/norbixina nas sementes que consiste na extração da norbixina em meio alcalino, utilizando uma solução 0,1 N de hidróxido de sódio. Após a extração, filtração e centrifugação, foi feita uma diluição apropriada para leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda correspondente a 480 nm e um coeficiente de extinção de 2870, para obtenção do percentual de norbixina. A este percentual foi multiplicado o fator de conversão igual a 1,037 para obtenção do percentual de bixina, o mesmo utilizado por YABIKU e TAKAHASHI (1992).

SCOTTER *et al.* (1998) utilizaram os seguintes métodos:

Para determinação de bixina em extrato óleo-solúvel, dissolveram e diluíram aproximadamente 0,1 g da amostra com uma solução de ácido acético (10% v/v) em clorofórmio em um frasco de 200 mL. Retiraram uma alíquota de 1 mL e diluiu para 10 mL usando uma solução de ácido acético (3% v/v) em clorofórmio para dar uma solução de amostra em ácido acético (3,7% v/v) em clorofórmio. A absorbância da solução diluída foi medida a 505 nm e 474 nm em uma cubeta de quartzo de 1 cm contra uma solução de referência de ácido acético (3% v/v) em clorofórmio. O conteúdo de bixina foi determinado pela referência aos coeficientes de extinção $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2790$ a 505 nm e $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 3130$ a 474 nm.

Para determinação da norbixina em extrato solúvel em água, dissolveram e diluíram aproximadamente 0,1 g da amostra com uma solução de ácido acético (5% v/v) em clorofórmio em um frasco de 200 mL. Retiraram uma alíquota de 1 mL e diluiu para 10 mL com clorofórmio para dar uma solução de amostra de ácido acético (0,5% v/v) em clorofórmio. A absorbância da solução diluída foi medida a 503 e 473 nm em uma cubeta de quartzo de 1 cm contra uma solução de referência de ácido acético (0,5% v/v) em clorofórmio. O conteúdo de norbixina foi determinado pela referência aos coeficientes de extinção $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 2290$ a 503 nm e $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 2620$ a 473 nm.

Para determinação do total de pigmentos solúveis do extrato, aproximadamente 0,1 g de amostra foi dissolvida e diluída em 100 mL de clorofórmio. A absorbância da solução foi varrida na faixa de comprimento de onda de 400 a 600 nm em uma cubeta de quartzo de 1 cm contra a referência de clorofórmio. O comprimento de onda de absorção máxima na região de 500 nm foi determinada e a absorbância medida neste comprimento de onda e em 404 nm. O conteúdo total de pigmento expresso como bixina foi calculado usando a seguinte fórmula:

$$\text{Pigmento Total (\%)} = \frac{[(A_{\text{máx}} + A_{404}) - (0,256 \cdot A_{\text{máx}})]}{282,6} \times \frac{100}{\text{PA}} \times \frac{\text{VD}}{1000} \text{ onde:}$$

$A_{\text{máx}}$ = absorbância máxima medida

A_{404} = absorbância medida a 404 nm

0,256 = fator relativo às absorbâncias 404 e 501 nm para a bixina em clorofórmio

282,6 = absortividade da bixina a 501 nm em clorofórmio

DEGNAN *et al.* (1991) calcularam o conteúdo de pigmento das sementes, expresso em percentual de bixina, após repetidas extrações com CHCl_3 , com leitura de absorbância a 501 nm e coeficiente de extinção $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2826$ (litros de CHCl_3 /10 g de bixina).

2.5.2 - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

ROUSEFF (1988) apresentou um método de separação por HPLC para determinação de pigmentos em corantes para alimentos, urucum e turmeric. O tempo de análise para o sistema isocrático foi de 10 minutos e para o sistema de gradiente, 22 minutos. A separação isocrática empregou uma coluna 25 cm X 4,6 cm i.d. Zorbax ODS com uma mistura 58:42 (v/v) de água:tetrahidrofurano (THF), a 1 mL/min.

A preparação das amostras consiste na diluição e filtração dos extratos. Os três maiores pigmentos no turmeric, identificados do fluxo do espectro visível e fluorescente foram a curcumina, dimetóxicurcumina e disdimetóxicurcumina. A absorbância, excitação e emissão máxima para os três curcuminóides mais os carotenóides bixina e norbixina, foram determinadas.

De acordo com ROUSEFF (1988), os pigmentos no urucum e turmeric são razoavelmente hidrofóbicos pois são fortemente retidos numa fase estacionária não polar tal como C_{18} . Experimentos utilizando colunas C_{18} com os solventes mais comuns de fase reversa tais como água-metanol e água-acetonitrila não foram satisfatórios. Mesmo que a força de eluição da fase móvel possa ser ajustada para alcançar um fator

de capacidade (k) satisfatório, a forma do pico (“tailing”) foi um problema. Felizmente, os sistemas de solvente água-tetrahidrofurano produziram excelentes resolução e forma do pico.

2.5.3 - Cromatografia em Camada Delgada

Diversos métodos de cromatografia em camada delgada têm sido desenvolvidos. O método utilizado no Laboratório Unilever Research Colworth Laboratory foi desenvolvido para isolar e identificar os principais componentes nas preparações comerciais de extrato de urucum e ajudar em estudos do destino metabólico dos pigmentos de urucum no rato e no homem (PRESTON e RICKARD, 1980).

SILVA (1999) realizou a análise utilizando placas cobertas por uma camada de sílica gel G60 MERCK. Na fase móvel foi utilizada uma mistura de clorofórmio-acetona-ácido acético (50:50:1) colocada numa cuba de vidro, onde as placas contendo os corantes foram mergulhadas por 30 minutos a temperatura ambiente.

Nas placas foram aplicadas amostras da bixina pura, da norbixina pura, extrato das sementes do urucum em clorofórmio e os extratos dos experimentos para várias condições estudadas, para a verificação da faixa que se extrai mais bixina na forma *cis* ou *trans*, e outros componentes.

2.5.4 - Cromatografia em Papel

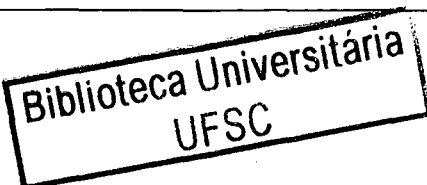
McKEOWN (1961) descreveu um método para a separação da bixina e compostos relacionados, utilizando a cromatografia em papel por partição.

Foram estudados a bixina lábil (forma *cis*), a norbixina lábil, a metilbixina lábil e seus correspondentes isômeros estáveis (forma *trans*).

O método consiste na preparação de uma tira de papel impregnada com uma solução 50% (v/v) de N,N-dimetilformamida (DMF) em acetona e deixada secar ao ar por 10 minutos com o papel suspenso na posição vertical. Após a secagem, pingar rapidamente na linha de início previamente marcada, 2 microlitros de uma solução 0,2% de Oil Yellow AB (1-fenil-azo-2-naftilamina) em DMF para referência, e 2 microlitros de soluções de bixina as quais se quer analisar. Desenvolve-se o cromatograma por fluxo descendente, utilizando ciclohexano-clorofórmio-DMF-ácido acético na proporção 85:10:3:2 por três horas, ou até que uma separação satisfatória seja obtida. Determina-se os valores de *R* dos pigmentos desconhecidos com respeito ao Oil Yellow AB e compara-se com os valores dados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de *R_f* e *R* Relativos ao Oil Yellow AB para a Bixina e Compostos Relacionados

Composto	<i>R_f</i> (média)	<i>R_{AB}</i>
Norbixina estável	0,009	0,037
Norbixina lábil	0,014	0,058
Bixina estável	0,09	0,37
Bixina lábil	0,14	0,58
Oil Yellow AB	0,24	1,00
Metilbixina estável	0,38	1,58
Metilbixina lábil	0,56	2,33



0.343.623-0

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Sementes de Urucum

Visando a determinação da influência do tempo de armazenamento das sementes de urucum na extração e purificação do corante do urucum, foram selecionados quatro lotes de sementes; com cinco anos de estocagem, um ano de estocagem e duas recentemente adquiridas no mercado. O acondicionamento das sementes durante o armazenamento foi realizado em sacos de polietileno preto em condições ambientais.

As sementes de urucum mais recentes foram fornecidas pela empresa Chr. Hansen Indústria e Comércio Ltda, localizada em Valinhos/SP, sendo uma mistura das variedades Peruana Paulista e Piave Vermelha e, as sementes com cinco e um ano de estocagem, foram provenientes do estado da Bahia.

3.2 – Padrão de Bixina

O padrão de bixina foi fornecido pela empresa Chr Hansen A/S localizada em Hørsholm/Dinamarca, lote nº BX-124-99.

3.3 – Reagentes e Materiais Diversos

Os seguintes solventes foram utilizados entre outros: álcool etílico absoluto P. A. (Nuclear), clorofórmio P. A. (Biotec, Nuclear), tetrahidrofurano P. A. (Nuclear), álcool metílico HPLC/Espectro (Tedia), acetona P. A. (Biotec), hidróxido de sódio P. A. Micropérolas (Vetec), ácido acético glacial P. A. (Biotec), hexano P. A. (Dinâmica), éter de petróleo P. A. (Biotec), água destilada.

3.4 – Equipamentos

Os principais equipamentos utilizados neste trabalho foram:

Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) da marca CG composto de uma bomba modelo CG 480-E, detector UV modelo CG 437-B, integrador modelo CG-200, coluna Nucleosil 120-5 C18 250 x 4 mm e pré-coluna Nucleosil 5 C18 30 x 4,6 mm; espectrofotômetro UV/Visível da marca Shimadzu modelo UV Mini 1240; pHmetro da marca Quimis modelo 400M2; balança analítica da marca Mettler Toledo modelo AB204-5 precisão 0,1 mg; estufa de secagem e esterilização da marca Tecnal modelo TE-393/1; agitador mecânico da marca Fisaton modelo 713A; ultrassom da marca Thornton Unique modelo USC 1450; banho ultratermostatizado da marca Marconi modelo MA184; centrífuga termostatizada marca Sigma modelo 2K15; centrífuga marca Presvac modelo DCS-16RV; bomba de vácuo da marca Marconi modelo MA057; microscópio ótico da marca Carl Zeiss Jena modelo EPIVAL; microscópio

ótico da marca Olympus modelo BX40; classificador por série de peneiras da marca Singer; dessecador, Soxhlet, tacômetro, ferramentas e vidraria em geral.

3.5 – Procedimento Experimental

3.5.1 – Extração do Corante do Ariolo da Semente do Urucum

No presente trabalho foram estudadas duas rotas de extração dos corantes do urucum: extração via à seco utilizando moinho de bolas e extração via a úmido, utilizando agitação mecânica. Nesta última, duas fases líquidas foram utilizadas: água e etanol.

3.5.1.1 – Extração por Moinho de Bolas

Um esquema do equipamento utilizado é ilustrado na Figura 9, onde é apresentado um corte lateral do moinho de bolas podendo-se observar a representação da mistura de bolas e sementes no seu interior. O moinho tem forma cilíndrica com o raio (R) igual a 8,75 cm e comprimento igual a 18,5 cm. O equipamento é operado a uma rotação (N) de 33 rpm, sendo selecionada uma relação da carga de sementes e bolas de 1:1 em volume. O tamanho das bolas foi variado, sendo que 80% das mesmas tem um diâmetro de 5 cm e 20% um diâmetro de 4 cm. A massa específica das bolas utilizadas é de 1,7g/mL e sua composição é a alumina.

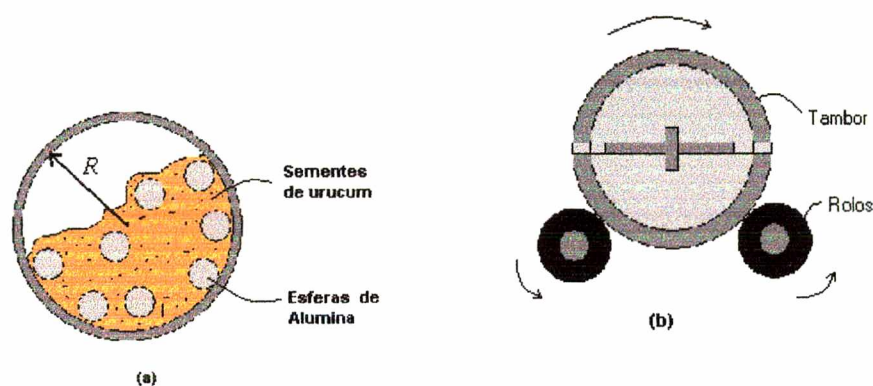


Figura 9 – a) Representação da Vista Interna de um Moinho de Bolas Carregado com Sementes de Urucum; b) Vista Frontal do Moinho Fechado

A umidade das sementes deve ser previamente determinada, por estufa a 105 °C durante 24 horas, resfriadas em dessecador e pesadas (NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). O procedimento deve ser repetido até obter peso constante. Os cálculos do rendimento devem ser feitos em base seca.

Os seguintes parâmetros foram investigados na extração dos corantes do urucum, utilizando-se moinho de bolas:

1 – Rendimento total da extração, definido pela relação:

$$R_T = \frac{\text{Massa Total de Extrato}}{\text{Massa de Sementes}} \times 100 \quad (3.5.1.1-1)$$

2 – Classificação granulométrica do extrato obtido, através da utilização de peneiras vibratórias, nas seguintes faixas granulométricas: inferior a 10, de 10 a 48, de 48 a 60, de 60 a 80, de 80 a 100 e de 100 a 250 Mesh.

3 – Rendimento da extração por faixa granulométrica definido pela relação:

$$R_i = \frac{\text{Massa na Fração } i}{\text{Massa de Sementes}} \times 100 \quad (3.5.1.1-2)$$

- 4 – Concentração de bixina nas diversas frações granulométricas obtidas.
- 5 – Rendimento expresso em percentual de norbixina por fração granulométrica.
- 6 – Tempo de operação do moinho de bolas, sendo selecionados os seguintes intervalos: 0,5; 1; 2; 3; 4; 8 e 12 horas.
- 7 – Tempo de estocagem das sementes. Serão utilizados lotes de sementes com 5 e 1 ano de estocagem e outras recentemente adquiridas no mercado, com 3 e 1 mês de estocagem.

3.5.1.2 – Classificação Granulométrica

A classificação granulométrica foi realizada utilizando-se um classificador de peneiras, com velocidade de vibração na posição 60. Na Figura 10 é apresentado um desenho esquemático do classificador por série de peneiras usado no experimento.

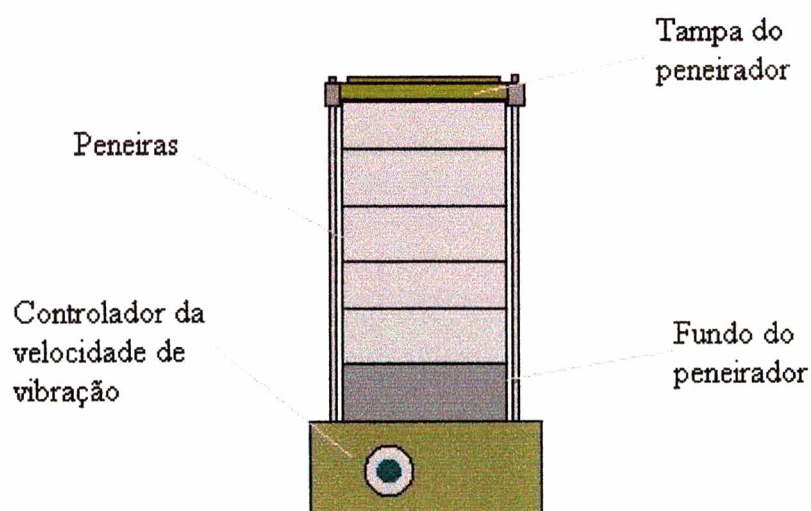


Figura 10 – Classificador por Série de Peneiras

3.5.1.3 – Extração por Agitação Mecânica

O procedimento experimental adotado é descrito a seguir:

A umidade dos extratos concentrados obtidos deve ser determinada posteriormente, sendo todos os cálculos de percentual de norbixina efetuados em base seca. É pesado um volume equivalente a 300 mL de amostra de sementes em triplicata. Esta massa foi dimensionada de modo a ocupar aproximadamente 1/6 do volume total, do Becker para agitação. Adiciona-se ao volume de sementes duas vezes o seu volume de líquido (água ou etanol), iniciando-se o processo de agitação.

A suspensão é separada das sementes através de uma peneira de 10 Mesh, e transferida para uma proveta de 1000 mL, para sedimentação. Após este processo, a fase diluída é separada por sifonação e o espessado é seco em estufa a 60°C.

O principal corante extraído, quando se utiliza solventes orgânicos é a bixina. Os Os processos de extração que utilizam soluções alcalinas extraem como corante principal a norbixina. Nestes processos são empregados soluções de hidróxido de sódio, hidróxido de potássio e carbonato de sódio.

A simples imersão das sementes numa fase líquida como a água, na qual a bixina é praticamente insolúvel, seguida de uma agitação vigorosa, é suficiente para ocasionar o desprendimento dos corantes da semente e gerar uma suspensão na fase líquida. Esta suspensão pode ser decantada e o concentrado de corante recuperado.

Visando-se obter o concentrado de corante de urucum, isento de contaminantes oriundos do processo de extração por solventes, optou-se por investigar dois processos de extração a úmido: utilizando água e utilizando etanol absoluto.

Um esquema do equipamento utilizado (agitador mecânico) é ilustrado na Figura 11. Nos experimentos realizados, a velocidade de rotação foi mantida constante, N (número de rotações) = 540 rpm, sendo que a relação volumétrica de sementes por solvente utilizado foi respectivamente de 1:2. Os solventes usados nos experimentos foram água destilada e etanol absoluto. O tanque de agitação usado nos experimentos possui um raio $r = 7$ cm e comprimento de $L = 19$ cm (volume de 2000 mL). A hélice utilizada no agitador foi a do tipo naval. O tempo de agitação foi variado de 0,25 a 4 horas. A temperatura foi mantida constante em 25 °C.

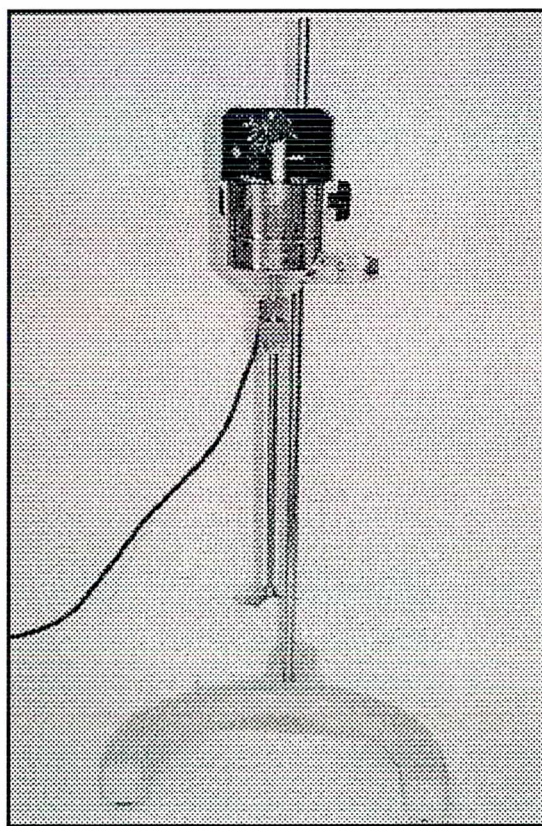


Figura 11 – Agitador Mecânico

Os seguintes parâmetros foram analisados no processo de extração por agitação mecânica:

- 1 – Rendimento total da extração.
- 2 – Classificação granulométrica do extrato obtido.
- 3 – Rendimento da extração por faixa granulométrica.
- 4 – Concentração de norbixina nas faixas granulométricas.
- 5 – Tempo de agitação (2 e 4 horas para a água e 0,25; 0,5 e 2 horas para o etanol).
- 6 – Tempo de sedimentação e concentração do espessado.
- 7 – Efeito do tempo de infusão das sementes na fase líquida (0; 1; e 4 horas para a água e 0; 0,5 e 4 horas para o etanol).

Com objetivo de aumentar o rendimento do processo, realizaram-se testes de extração de corantes de urucum com água e etanol deixando as sementes em infusão durante um tempo determinado. Depois deste tempo de infusão, as sementes foram levadas à agitação.

3.5.1.4– Sedimentação do Concentrado de Urucum

Utilizando uma proveta de 1000 mL, realizaram-se os ensaios de sedimentação com a suspensão de concentrado de corante de urucum obtido na extração com água e etanol. Colocou-se rapidamente a suspensão na proveta, determinando a altura de espessado em relação a um referencial. Um esquema deste ensaio é apresentado na Figura 12.

Após a sedimentação completa do extrato, o sobrenadante foi removido e o espessado foi seco em estufa à temperatura constante de 60 °C. O extrato seco foi pulverizado em almofariz e armazenado sob refrigeração a 9 °C.

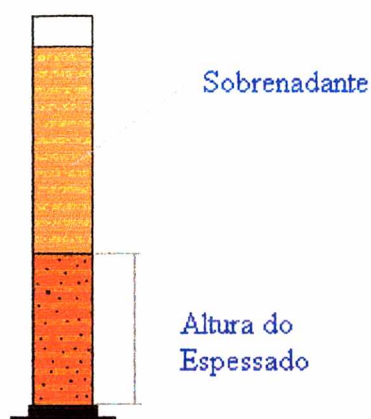


Figura 12 – Ensaio de Sedimentação da Suspensão de Concentrado de Urucum

3.5.2 – Projeto do Sedimentador

Na literatura vários métodos para o projeto de sedimentadores são encontrados, como o Método de Coe e Clevenger, Talmadge e Fitch, Kynch e Roberts (GOMIDE, 1980 e FOUST, 1982).

O sedimentador projetado visa separar as partículas contendo alto teor de bixina, do etanol utilizado como solvente do misturador.

O ensaio de sedimentação foi realizado com uma suspensão de partículas, obtida no processo de extração por agitação mecânica conforme descrita nas seções anteriores.

A suspensão foi transferida para uma proveta de 1000 mL, medindo-se a variação da altura Z da superfície de separação entre o líquido clarificado e a suspensão, em função do tempo. O resultado deste ensaio viabiliza o dimensionamento do sedimentador.

O método utilizado para o projeto do sedimentador é o de Kynch (GOMIDE, 1980), que utiliza a Equação (3.5.2-1).

$$S = \frac{Q_A C_A}{u} \left(\frac{I}{C} - \frac{I}{C_E} \right) \quad (3.5.2-1)$$

onde,

- S Área de sedimentação (m^2), seção transversal do sedimentador;
- Q_A Vazão volumétrica da suspensão alimentada no sedimentador (m^3/h);
- C_A Concentração de sólidos na suspensão alimentada no sedimentador (Kg/m^3);
- C_E Concentração da lama espessada (Kg/m^3);
- C Concentração da suspensão na zona limite (Kg/m^3);
- u Velocidade de sedimentação na zona limite (m/h).

Com os valores correspondentes de C e u determinados experimentalmente, diversos cálculos de S são feitos com pares de valores dessas grandezas e o maior valor encontrado será a área mínima requerida para a sedimentação.

Tanto a concentração C como a velocidade de sedimentação u podem ser tirados diretamente da curva de sedimentação Z versus θ (tempo), obtida do ensaio realizado, conforme as Equações (3.5.2-2) e (3.5.2-3), respectivamente. Traçam-se

tangentes em diversos pontos da curva e determinam-se os valores de θ , Z e Z_i , como ilustra a Figura 13. Para possibilitar o cálculo da tangente de forma exata, os pontos da curva de sedimentação foram linearizados de forma a obter uma equação polinomial de sexto grau. Esta equação foi então derivada, possibilitando um cálculo mais preciso da derivada nos pontos desejados.

$$C = \frac{Z_o C_o}{Z_i} \quad (3.5.2-2)$$

$$u = -\frac{dZ}{d\theta} = \frac{Z_i - Z}{\theta} \quad (3.5.2-3)$$

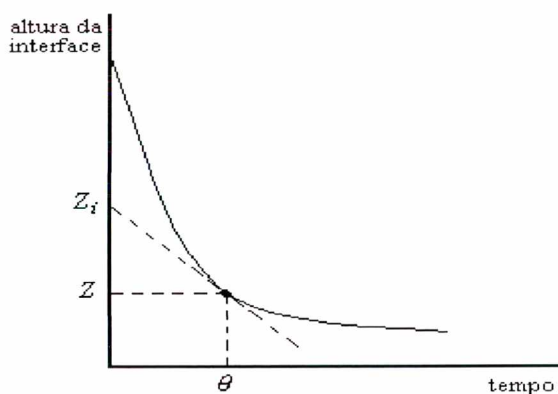


Figura 13 – Determinação gráfica de C e u pelo método de Kynch

3.5.3 – Purificação da Bixina

O extrato obtido nos processos de extração contém impurezas agregadas aos corantes, como por exemplo celulose e pequenos fragmentos de sementes. O processo

de purificação consiste na solubilização do concentrado em ácido acético glacial, aquecimento para facilitar a solubilização e filtração a quente da solução para a remoção das partículas insolúveis. A solução filtrada é resfriada para ocasionar a cristalização da bixina. Os cristais são separados, lavados com água destilada e secos.

A Figura 14 ilustra o equipamento utilizado no processo de purificação do concentrado de urucum. O equipamento consiste em uma manta de aquecimento e um balão de fundo redondo com um condensador acoplado. O balão possui uma saída lateral na qual é conectada um tubo de vidro que fica em contato com a solução do balão. Este tubo de vidro por sua vez é conectado a um filtro sinterizado unido a um kitazato, que está conectado a uma bomba de vácuo através de um sistema de retenção de ácido acético, envolvido por um banho de gelo.

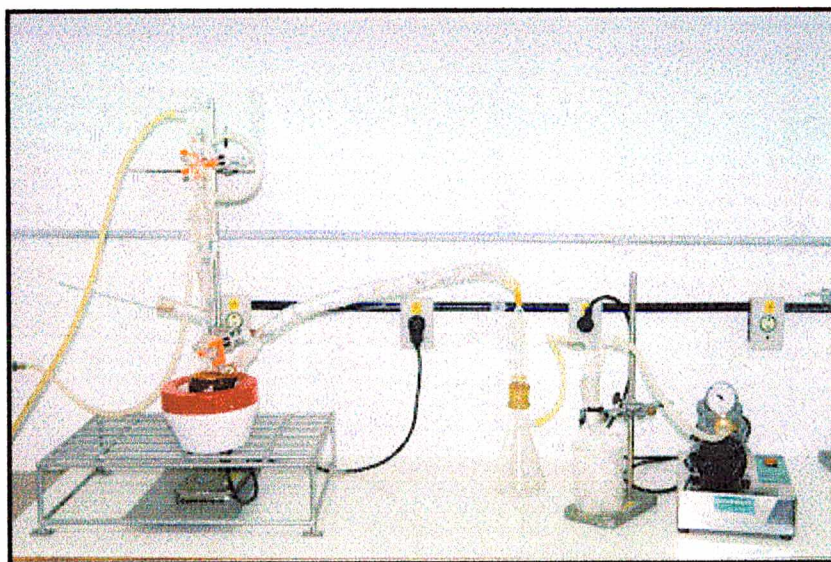


Figura 14 – Equipamento Utilizado no Processo de Purificação do Concentrado de Urucum

Outro processo de purificação do concentrado de urucum consiste em se dissolver o concentrado em uma solução de NaOH 0,1N para a solubilização da bixina e

posterior precipitação desta com o auxílio de uma solução de HCl. O precipitado é então centrifugado, lavado com água destilada e seco.

3.5.4 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A cromatografia líquida de alta eficiência, permite algumas vantagens no que diz respeito à degradação da amostra durante a análise, evitando alguns problemas como a decomposição fotoquímica, oxidativa e térmica aos quais os pigmentos estão sujeitos na cromatografia de camada delgada. A decomposição fotoquímica é eliminada porque a separação ocorre em uma coluna de aço inoxidável. A decomposição oxidativa é minimizada porque a separação ocorre relativamente rápida e também porque o oxigênio é removido da fase móvel durante o processo de degaseificação (ROUSEFF, 1988). A degradação térmica é evitada pois a separação pode ser realizada a baixas temperaturas.

Seguindo a técnica descrita por BARONCELLI *et al.* (1997), foi utilizado um sistema isocrático, coluna Nucleosil 120-5 C18 (250 X 4,6 mm) e pré-coluna Nucleosil 5 C18 120 (30 X 4,6 mm), detecção UV-Visível a 405 nm, fase móvel: metanol:água:ácido acético (87:12:1) a 1 mL/min.

Outra técnica utilizada, descrita por ROUSEFF (1988), consiste na separação isocrática utilizando como fase móvel tetrahidrofurano:água (58:42) a 1mL/min, coluna Nucleosil 120-5 C18 (250 X 4,6 mm) e pré-coluna Nucleosil 5 C18 120 (30 X 4,6 mm), detecção UV-Visível a 464 nm.

3.5.5 – Teor de Bixina nos Extratos

Para determinação do teor de bixina foi feita uma adaptação do método descrito por KATO *et al.* (1992).

Pesou-se uma amostra de 0,05 g e dissolveu-se em 500 mL de uma solução de NaOH 0,1 N. Três alíquotas no mínimo, foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL, completando o volume com solução de NaOH 0,1 N, fazendo-se a curva de calibração, com leitura em espectrofotômetro a 480 nm, utilizando-se um coeficiente de extinção de 2870 para a obtenção do percentual de norbixina. Para a conversão deste percentual em bixina, o fator de conversão é igual a 1,037.

A Equação (3.5.5-1), originária da lei de Beer, pode ser escrita para X (% de norbixina em massa), considerando as diluições efetuadas.

$$X = \frac{A \times V}{E_{1\%}^{1\text{cm}} \times m} \cdot \frac{1}{d_c} \frac{V_i}{d_i} \quad (3.5.5-1)$$

Onde:

m = massa da amostra (0,05 g)

V = volume inicial de extração (500 mL)

V_i = o volume de diluição (100 mL)

d_i = volume da alíquota para a diluição

A = absorvância lida pelo espectrofotômetro no comprimento de onda de 480 nm

E_{1cm}^{1%} = coeficiente de extinção molar (2.870)

d_c = diâmetro da célula de medida (1,0 cm)

3.5.6 - Caracterização do Óleo quanto aos Ácidos Graxos

Para se caracterizar os triglicerídeos presentes nas amostras de óleo, determina-se inicialmente a composição em ácidos graxos por cromatografia gasosa. As amostras de óleo são submetidas à esterificação para síntese de ésteres metílicos, segundo SILVA (1973).

No presente trabalho a análise da composição dos ácidos graxos foi realizada pela empresa Perdigão, localizada no município de Videira/SC.

3.5.7 - Determinação de Bixina na Semente

É descrito a seguir o método de YABIKU e TAKAHASHI (1992).

Uma massa de 100 g de sementes foram moídas em um moinho de facas ou equivalente. Pesadas com precisão de mg, cerca de 2 gramas da semente moída foram transferidas para um Erlenmeyer de 300 mL. Foram adicionados 100 mL de clorofórmio com agitação vigorosa durante três minutos. Filtrou-se através de lã de vidro, recebendo o filtrado em balão volumétrico de 250 mL. O resíduo e a lã foram retornados e reextraídos com 50 mL de clorofórmio. Filtrou-se em lã de vidro, recebendo o filtrado no mesmo balão volumétrico. O procedimento de extração foi repetido com alíquota de 50 e 30 mL de clorofórmio ou até a extração completa dos pigmentos. O volume foi completado com clorofórmio até 250 mL.

Uma alíquota de 10 mL foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL. Completou-se o volume com clorofórmio. Uma alíquota de 10 mL foi diluída com clorofórmio em balão volumétrico de 100 mL. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 470 nm, usando clorofórmio como branco.

A concentração da bixina foi encontrada usando-se o coeficiente de extinção:

$$E \frac{1\%}{1\text{cm}} = 2826.$$

3.5.8 - Determinação de Norbixina na Semente

O método utilizado para a determinação de norbixina foi desenvolvido por YABIKU e TAKAHASHI (1992).

Cerca de 25 g de sementes foram pesadas com precisão de mg em um Erlenmeyer de 500 mL. Foi adicionado 150 mL de solução de KOH a 5%, fervente. Aquecido à ebulição por um minuto e resfriado em água corrente. Filtrou-se através de lã de vidro para um balão volumétrico de 1000 mL e o resíduo foi lavado com 100 mL de água destilada. O processo de lavagem foi repetido por mais sete vezes e completado o volume com água destilada. Uma alíquota de 2 mL dessa solução foi transferida para um balão volumétrico de 1000 mL, completando-o com solução de KOH a 0,5%. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 423 nm, em cubeta de 1 cm de percurso óptico, usando como branco a solução de KOH a 0,5%.

A concentração de norbixina foi encontrada usando-se o coeficiente de extinção:

$$E \frac{1\%}{1\text{cm}} = 3473.$$

A percentagem de norbixina encontrada multiplicada pelo fator 1,037 dá o percentual de bixina.

3.5.9 - Determinação de Umidade

Uma massa de 2 gramas da amostra foi pesada em placa de Petry, previamente aquecida em estufa a 105 °C por 24 horas, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Aqueceu-se durante 24 horas em estufa a 105 °C e resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente e foi pesado. As operações de aquecimento em estufa e resfriamento em dessecador foram repetidas até peso constante. O cálculo foi feito da seguinte forma: $\text{Umidade}\% = \frac{100 \times N}{P}$, onde **N** é a massa em gramas de umidade e **P** é a massa em gramas da amostra.

3.5.10 - Determinação de Cinzas

Cinzas ou resíduo por incineração é o nome dado ao resíduo obtido por aquecimento de um produto em temperatura próxima a 550-570 °C. Nem sempre este resíduo representa toda a substância inorgânica presente na amostra, pois alguns sais podem sofrer redução ou volatilização nesse aquecimento.

Geralmente, as cinzas são obtidas por ignição de quantidade conhecida da amostra, entre 1 e 5 gramas, em cadinho ou cápsula de platina, porcelana ou outro material resistente ao calor, mantida em mufla a 550 °C, até eliminação completa do carvão. As cinzas deverão ficar brancas ou ligeiramente acinzentadas; em caso contrário, esfriar, adicionar 0,5 mL de água, secar e incinerar novamente. Algumas gotas de azeite comestível, adicionadas inicialmente à amostra, facilitam a carbonização.

Muitas vezes é vantajoso combinar a determinação direta de umidade e a determinação de cinzas, incinerando o resíduo obtido na determinação de umidade.

Procedimento:

Uma massa de 5 gramas da amostra foi pesada em cápsula de porcelana, previamente aquecida em mufla a 550° C, resfriou-se em dessecador à temperatura ambiente e pesou-se. Foi feita uma secagem em estufa, carbonização em temperatura baixa e incineração em mufla a 550° C. Resfriada em dessecador até a temperatura ambiente a amostra foi pesada. As operações de aquecimento em mufla e resfriamento em dessecador foram repetidas até a verificação de peso constante. O cálculo foi feito da seguinte forma: $\text{Cinzas\%} = \frac{100 \times M}{B}$, onde **M** é a massa em gramas de cinzas e **B** é a massa em gramas da amostra.

A seguir serão apresentados e discutidos os principais resultados alcançados no presente trabalho.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Extração Mecânica por Moinho de Bolas

As principais vantagens da extração mecânica em relação à extração por solvente são: a obtenção do extrato de bixina sem a extração de outras substâncias como os glicídios que agem como impurezas no concentrado de corante; a não utilização de solventes, evitando a combinação destes no extrato; a não necessidade de separar o solvente do extrato; e tampouco efetuar o processo de secagem do mesmo após a extração. A não necessidade de separar o solvente do extrato é de especial interesse pois, além de reduzir o custo do processo, ainda preserva o extrato da degradação térmica, ocasionada pela temperatura elevada do processo de recuperação do solvente.

Um parâmetro bastante importante nessa operação é a taxa de fratura das sementes no moinho. Esta taxa deve ser a menor possível, de tal forma que os fragmentos da semente não venham a estar presente na massa de extrato, constituindo-se impurezas no concentrado do corante de urucum.

Na operação de extração mecânica do corante de urucum utilizando o moinho de bolas, obteve-se como produto um extrato com variada faixa granulométrica. Com o objetivo de determinar as faixas granulométricas das partículas presentes no extrato obtido, realizou-se a classificação das mesmas pelo processo de peneiramento.

As partículas obtidas foram classificadas em seis faixas granulométricas definidas que são: inferior a 10, de 10 a 48, de 48 a 60, de 60 a 80, de 80 a 100 e de 100 a 250 Mesh. Observou-se que não houve formação de partículas suficientemente pequenas para passar pela peneira de 250 Mesh.

A diferença entre as sementes é caracterizada pelo seu tempo de estocagem. Nesta etapa são utilizadas sementes com cinco anos e um ano de estocagem, que são denominadas de sementes *A* e *B*, respectivamente.

A relação de carga de sementes e carga de bolas utilizada no presente trabalho foi de 1:1 (v/v).

A Tabela 5 apresenta os resultados dos experimentos com o moinho de bolas, onde variou-se o tempo de processamento e os lotes das sementes, determinando-se para cada caso a massa das partículas nas diversas faixas granulométricas.

Tabela 5 – Massa Obtida em Cada Fração Granulométrica

Semente	T(h)	Massa em gramas					
		< 10 #	10—48 #	48—60 #	60—80 #	80—100 #	100—250 #
A	0,5	795,71	9,22	4,50	1,90	2,20	1,60
A	1,0	762,31	17,60	4,90	2,6	2,20	2,10
A	2,0	741,11	30,37	11,05	4,37	1,65	0,88
A	2,0	757,91	30,94	9,77	5,2	4,09	0,80
A	3,0	644,41	52,00	18,95	7,98	5,99	0,87
A	4,0	489,61	79,17	21,26	7,47	10,27	4,39
A	8,0	520,41	152,69	13,89	24,54	13,57	40,84
A	12,0	432,21	212,03	40,03	42,20	55,50	51,10
B	2,5	562,91	65,32	12,95	7,53	13,93	10,09
B	3,0	532,91	49,94	10,32	7,16	14,13	14,86
B	3,0	607,81	56,70	9,40	7,00	12,20	10,10
B	4,0	532,71	73,00	16,45	9,63	17,23	11,07
B	5,0	506,41	77,68	29,41	7,89	23,76	19,65

Mesh

Os valores mássicos das faixas granulométricas da Tabela 5 foram transformados em valores percentuais, sendo feitas médias dos resultados dos experimentos com o mesmo tempo de moagem, separando as sementes A e B. Estes resultados são apresentados nas Tabelas 6 e 7, respectivamente.

Tabela 6 – Distribuição Percentual Média Mássica das Frações Obtidas no Peneiramento das Sementes A

T(h)	< 10 #	10—48 #	48—60 #	60—80 #	80—100 #	100—250 #
0,5	97,62	1,13	0,55	0,23	0,27	0,20
1	96,29	2,22	0,62	0,33	0,28	0,27
2	93,80	3,84	1,30	0,60	0,36	0,11
3	84,80	10,34	2,74	1,09	0,89	0,14

Tabela 6 – Continuação

T(h)	< 10 #	10—48 #	48—60 #	60—80 #	80—100 #	100—250 #
4	91,65	5,12	1,95	0,65	0,55	0,08
8	67,94	19,93	1,81	3,20	1,77	5,33
12	51,88	25,45	4,81	5,07	6,66	6,13

Mesh

Tabela 7 – Distribuição Percentual Média Mássica das Frações Obtidas no Peneiramento das Sementes *B*

T(h)	< 10 #	10—48 #	48—60 #	60—80 #	80—100 #	100—250 #
2,5	83,68	9,71	1,92	1,12	2,07	1,50
3	85,61	8,00	1,48	1,06	1,98	1,87
4	80,70	11,06	2,49	1,46	2,61	1,68
5	76,17	11,68	4,42	1,19	3,57	2,96

Mesh

Na Figura 15 é apresentado o percentual médio de norbixina por faixa granulométrica das sementes utilizadas, e podemos concluir que o percentual de norbixina extraído das sementes no moinho de bolas está diretamente relacionado com o tempo de estocagem das sementes.

Este comportamento é observado devido à instabilidade deste composto. É descrito em artigos da literatura que a bixina é extremamente sensível à luz e calor, sofrendo assim degradação quando submetida à ação destes agentes. Para minimizar este efeito, deve-se controlar as condições de estocagem das sementes, minimizando, o

máximo possível a exposição das mesmas à luz e temperaturas superiores a 60 °C, assim como a condição de umidade excessiva.

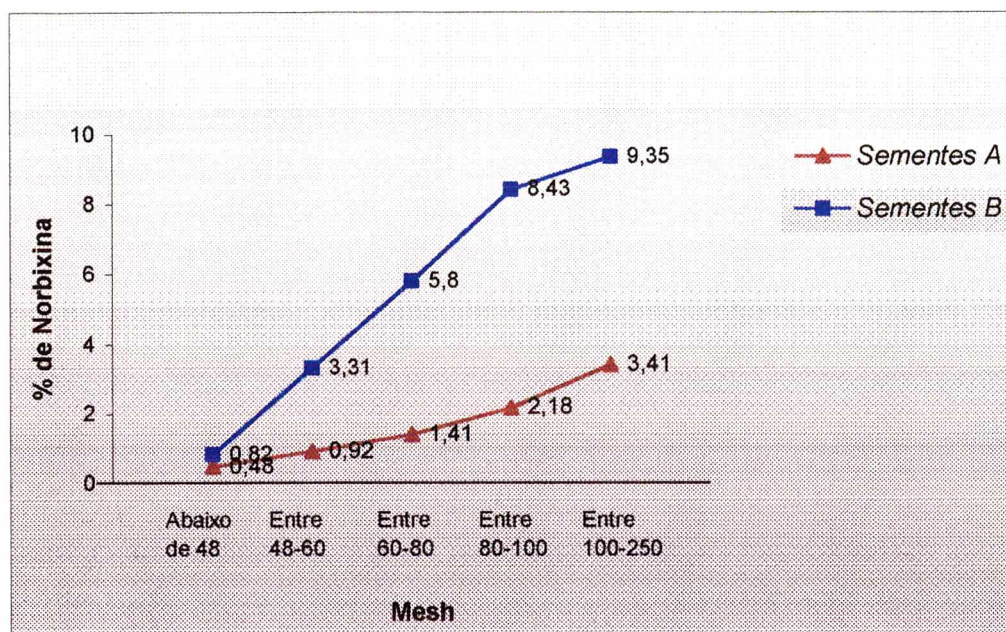


Figura 15 – Concentração de Norbixina nos Extratos de Urucum Obtidos Mecanicamente

Os estudos realizados por NAJAR *et al.* (1988) mostraram que o extrato de urucum tem uma estabilidade considerável à oxidação pelo ar em meio anidro, mas uma resistência mais baixa aos efeitos da luz os quais são proporcionais a intensidade da luz.

CARVALHO *et al.* (1993) estudaram a degradação de um corante sólido obtido por extração alcoólica das sementes de urucum, em embalagens com diferentes taxas de permeabilidade ao oxigênio, a temperatura de 30 °C, por um período de 368 dias, concluindo que materiais de embalagens com taxas de permeabilidade ao oxigênio de até 42 cm³ (CNT)/m²/dia a 25 °C conferiram adequada proteção ao produto durante um ano de estocagem a 30 °C e 90% UR na ausência de luz. Tal barreira ao oxigênio pode

ser obtida com estruturas co-extrusadas ou laminadas de nylon e polietileno de baixa densidade.

A Figura 16 ilustra a relação entre o tempo de residência das sementes *A* no moinho de bolas e o percentual mássico de cada fração granulométrica. Pode-se observar que a medida que o tempo de residência das sementes no moinho de bolas aumenta, a fração mássica <10 Mesh cai de maneira acentuada, sendo que as massas das frações superiores a 10 Mesh, aumentam de maneira a manter a massa total constante. É importante ressaltar que a fração mássica de granulometria <10 Mesh corresponde às sementes, e as demais frações correspondem à massa de extrato obtida através do atrito e massa de partículas resultantes da quebra das sementes. A quebra das sementes por sua vez não é um fator desejado pois a mesma acaba por gerar finas partículas de material celulósico que funcionam como impurezas do extrato obtido.

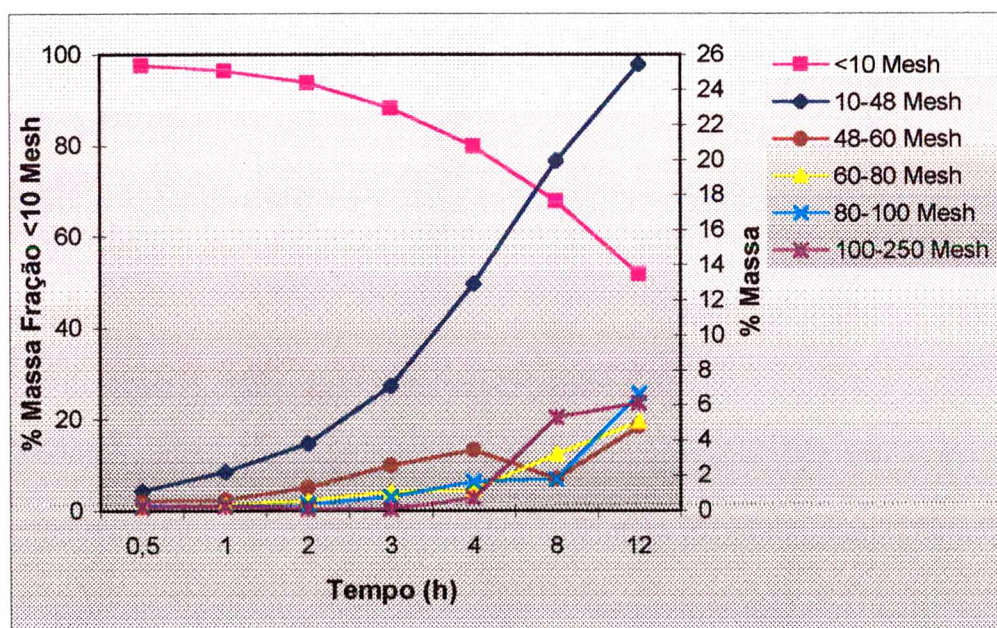


Figura 16 - Relação entre Tempo de Residência das Sementes no Moinho de Bolas e Distribuição Granulométrica Mássica das Sementes *A*

O mesmo tipo de tratamento gráfico dos dados foi feito para as sementes *B*, como é apresentado na Figura 17.

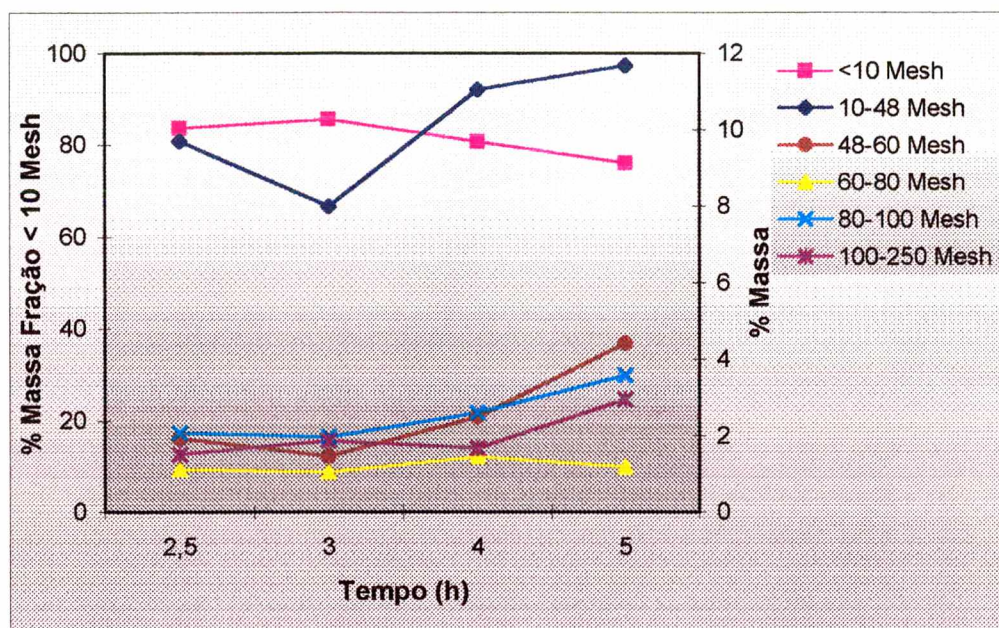


Figura 17 - Relação entre Tempo de Residência das Sementes no Moinho de Bolas e Distribuição Granulométrica Mássica das Sementes *B*

Com a finalidade de verificar a influência do tempo de estocagem das sementes com a distribuição granulométrica durante o processo de extração mecânica no moinho de bolas, comparando-se os gráficos da Figura 16 (sementes *A* – 5 anos de estocagem) e da Figura 17 (sementes *B* - 1 ano de estocagem), podemos concluir que a distribuição granulométrica das partículas na extração mecânica de sementes de urucum não depende significativamente do tempo de estocagem. Esta afirmação é válida no intervalo de tempo de estocagem das sementes estudado que é de 1 a 5 anos.

Com o objetivo de analisar o processo em termos de percentual de norbixina extraído em função do tempo de residência das sementes no moinho de bolas, são

apresentadas as Figuras 18 e 20. É importante ressaltar que os percentuais de norbixina apresentados neste gráfico dizem respeito ao percentual total de norbixina extraído em todas as frações granulométricas, em relação à massa de sementes, na unidade de tempo.

Observa-se que a medida que o tempo de residência das sementes no moinho de bolas aumenta, também aumenta o percentual mássico de norbixina extraída. As Figuras 19 e 21 mostram esse mesmo comportamento para cada uma das frações granulométricas.

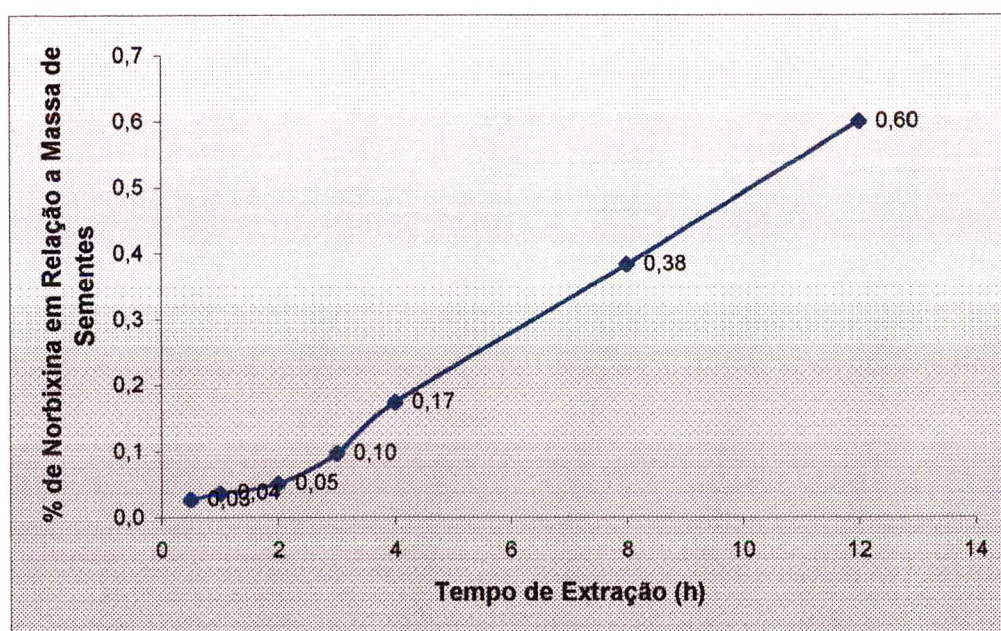


Figura 18 - Percentual de Norbixina em Relação a Massa de Sementes em Função do Tempo de Residência no Moinho de Bolas (Sementes A)

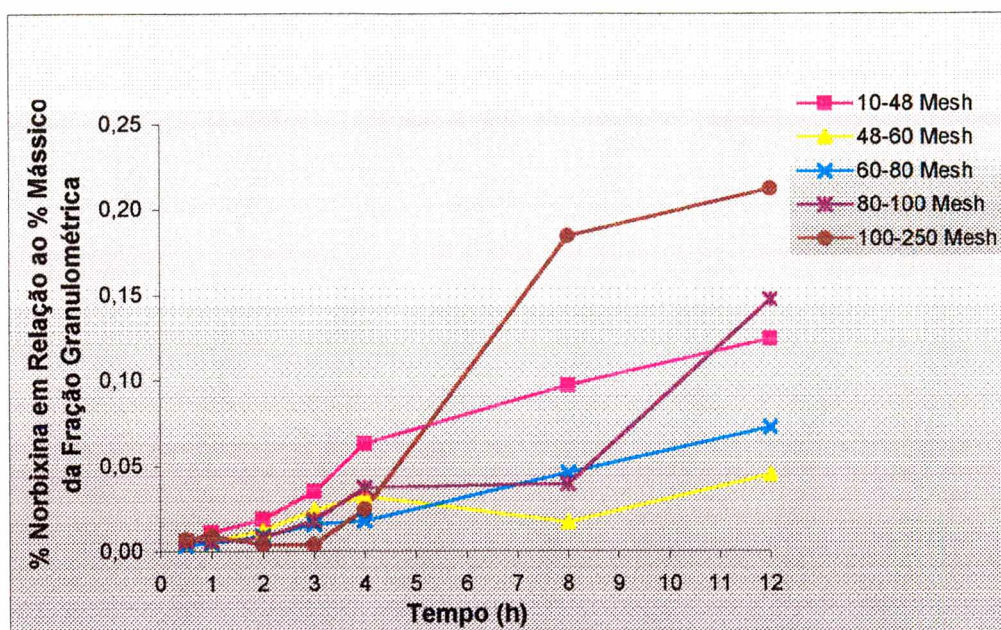


Figura 19 - Percentual de Norbixina em Relação ao Percentual Mássico das Frações Granulométricas em Função do Tempo de Residência no Moinho de Bolas (Sementes A)

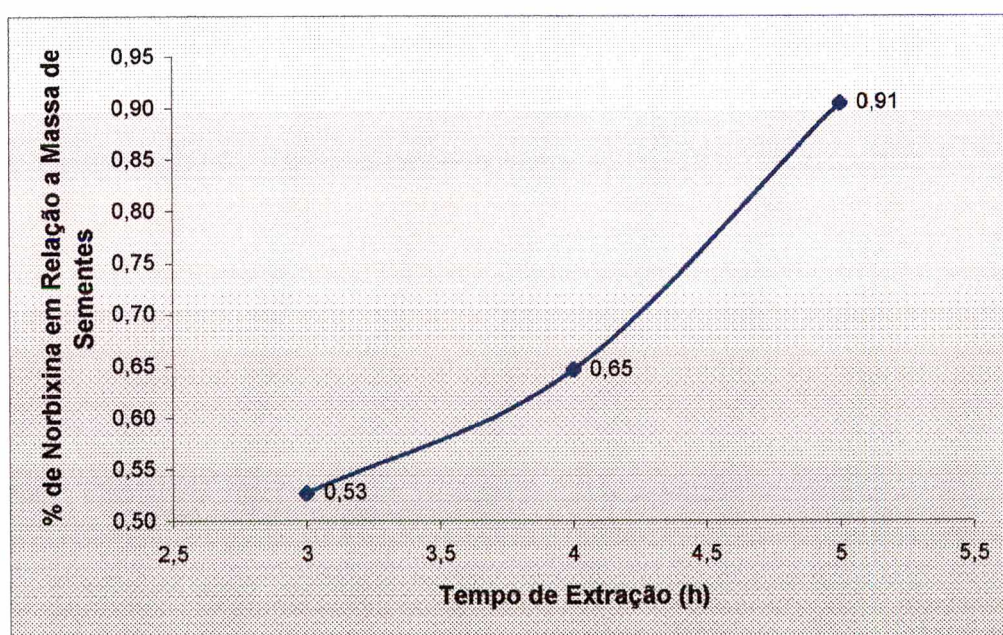


Figura 20 - Percentual de Norbixina em Relação a Massa de Sementes em Função do Tempo de Residência no Moinho de Bolas (Sementes B)

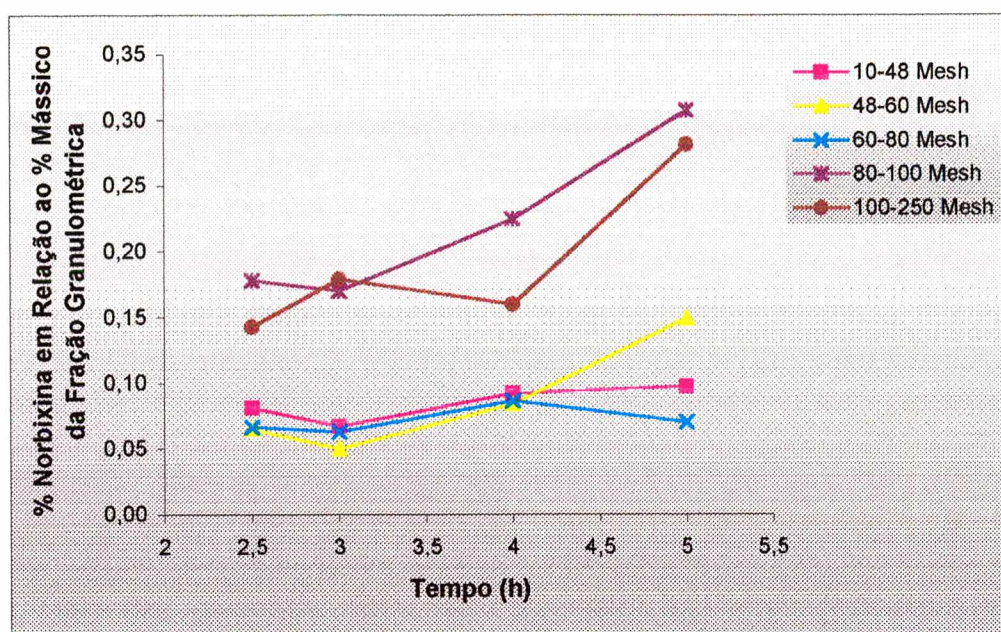


Figura 21 - Percentual de Norbixina em Relação a Massa de Sementes em Função do Tempo de Residência no Moinho de Bolas para cada Faixa Granulométrica (Sementes B)

Na Figura 18 observa-se um baixo percentual de norbixina extraída na unidade de tempo quando comparado à Figura 20, onde os percentuais são maiores. O percentual de norbixina extraída na unidade de tempo pode ser determinado pelo coeficiente angular da reta ajustada pelos pontos experimentais nas Figuras 18 e 20. Logo, para as sementes A (5 anos de estocagem), a taxa de extração de norbixina é de 0,052% em relação a massa de sementes por hora de residência no moinho de bolas e para as sementes B (1 ano de estocagem), a taxa de extração de norbixina é de 0,189% em relação à massa de sementes por hora de residência no moinho de bolas (considerando um ajuste da curva nos tempos de 3, 4 e 5 horas de extração). Assim, a taxa de extração de norbixina é superior a 3 vezes nas sementes B onde o tempo de estocagem é menor. Portanto, quanto menor for o tempo de estocagem das sementes, maior será a percentagem de norbixina nas mesmas, resultando em uma maior percentagem deste composto no extrato obtido.

Uma importante observação é que o maior percentual de norbixina é encontrado nas frações de menor granulometria, ou seja, na faixa granulométrica de 100-250 Mesh. Este comportamento é observado devido ao fato que nas frações granulométricas de maior tamanho de partícula, há presença de muitas partículas provindas da quebra das sementes. Como, nesta análise, o percentual de norbixina é calculado em relação à massa de cada fração obtida, pode-se afirmar que quanto maior o número de partículas provindas da quebra das sementes, menor será o percentual de norbixina na fração em questão. Os resultados experimentais do exposto acima são apresentados nas Figuras 22 e 23. Através destes gráficos, pode-se confrontar o percentual de norbixina nas frações em relação ao percentual mássico de extrato em cada fração, nos diferentes tempos de extração.

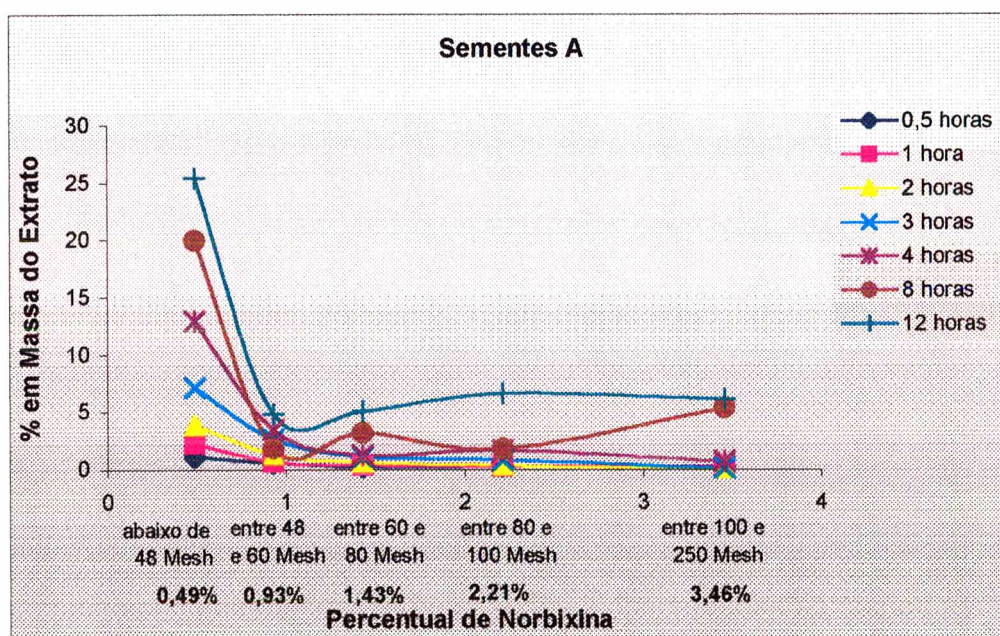


Figura 22 - Distribuição Granulométrica Percentual em Função do Percentual de Norbixina dos Extratos Obtidos por Extração Mecânica (Sementes A) por Tempo de Extração

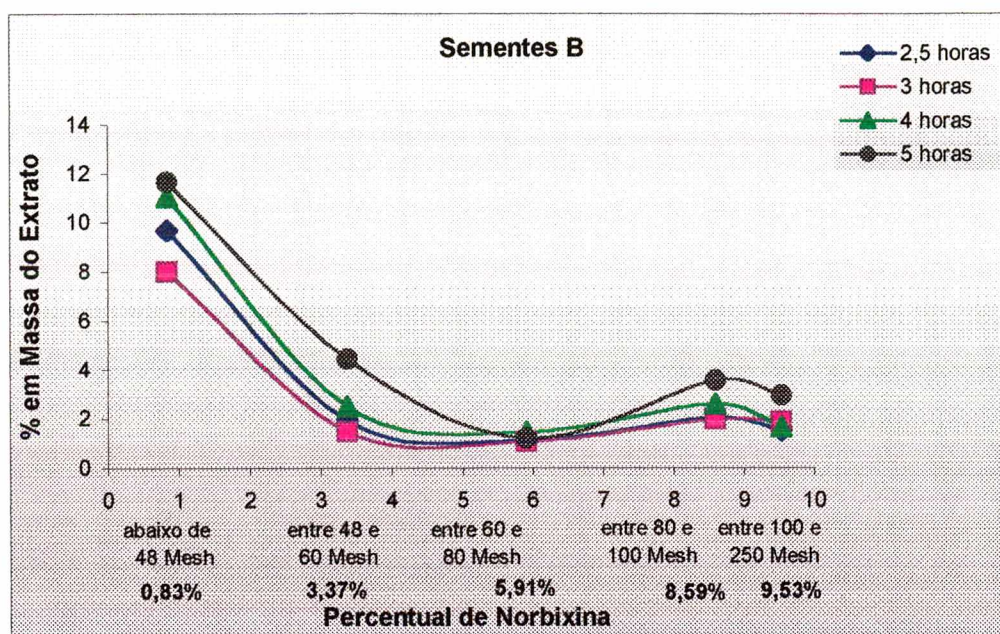


Figura 23 - Distribuição Granulométrica Percentual em Função do Percentual de Norbixina dos Extratos Obtidos por Extração Mecânica (Sementes B) por Tempo de Extração

Nas frações de maior granulometria, também podemos encontrar quantidades apreciáveis de norbixina, porém estas quantidades não podem ser aproveitadas diretamente, pois estão em combinação com uma massa relativamente grande de outros materiais, como celulose e cinza mineral. Por exemplo, observando a Figura 23, em 5 horas de extração mecânica, obtém-se uma massa de 12 % de extrato de granulometria abaixo de 48 Mesh, porém somente cerca de 1% dessa massa é norbixina, o restante pode ser considerado impureza. Esta massa de norbixina para ser utilizada terá que ser separada da massa de impurezas, dependendo da sua aplicação.

Pode-se então afirmar que, quanto maior for o tempo de residência das sementes no moinho de bolas, maior será a massa de extrato obtido. Após o processo de classificação das partículas, a fração de menor granulometria, entre 100 e 250 Mesh, é a que apresenta maior concentração de bixina. Portanto, quando se requer alto teor do

corante, as outras faixas granulométricas necessitarão passar por outro processo de extração, por apresentarem baixos teores de bixina, o que ocasiona uma elevação de custo do processo.

4.2 – Extração por Agitação Mecânica

4.2.1 – Extração Utilizando Água

Conforme descrito no capítulo de Material e Métodos, primeiramente realizou-se a extração do concentrado de urucum com água. As sementes utilizadas foram as com tempo de estocagem de 3 meses e 1 mês, denominadas sementes *C* e *D*, respectivamente. Na Tabela 8 são apresentadas as condições de operação das corridas experimentais onde foi variado o tempo de agitação.

Para cada condição operacional os seguintes resultados foram avaliados: massa de extrato concentrado, percentual de norbixina no extrato, umidade, rendimento mássico e rendimento da extração, dados pelas Equações (4.2-1) e (4.2-2), respectivamente. A velocidade de agitação foi de 540 rpm, a hélice utilizada foi a do tipo naval e os volumes de 300 e 600 mL para carregamento de sementes e água, respectivamente.

$$\% \text{ Rendim. Mássico} = \frac{\text{Massa Extrato Concentrado}}{\text{Massa de Sementes}} \times 100 \quad (4.2-1)$$

$$\% \text{ Rendim. da Extração} = \frac{\text{Massa Norbixina do Extrato Concentrado}}{\text{Massa Norbixina das Sementes}} \times 100 \quad (4.2-2)$$

**Tabela 8 – Rendimento e Condições de Operação da Extração de Corantes de
Urucum com Água**

Sementes	T (h)	MS (g)	MC (g)	%NE	%RM	%RN	%NS	%RE	%U
C	2	212,4	1,43	11,88	0,67	0,08	1,65	4,86	11,10
C	4	220,5	5,00	10,77	2,27	0,24	1,65	14,83	11,53
D	2	206,6	11,32	19,98	5,53	1,09	2,11	51,80	9,38

Onde:

T = Tempo de agitação

MS = Massa de sementes

MC = Massa do concentrado após secagem

%NE = Percentual de norbixina no concentrado (em base seca)

%RM = Percentual do rendimento mássico calculado como a razão entre a massa do concentrado e a massa de sementes

%RN = Percentual do rendimento de norbixina calculado como a razão entre a massa de norbixina (base seca) e a massa de sementes

%NS = Percentual de norbixina nas sementes

%RE = Percentual do rendimento de extração calculado como a razão entre a massa de norbixina no concentrado (base seca) e a massa de norbixina nas sementes

%U = Percentual de umidade no extrato concentrado

Na secagem do concentrado, devido à formação de grumos, faz-se necessária uma etapa de redução destes agregados para um pó finamente dividido. Esta etapa na escala de bancada foi realizada com o auxílio de um almofariz.

Os particulados obtidos, de amostras dos processos que envolveram 2 e 4 horas de agitação provenientes das sementes C, foram analisados após o processo de redução do concentrado de urucum na forma de pó finamente dividido, classificando estes através de processos de peneiramento e concluiu-se que a variação da composição de bixina nas frações menores que 60 Mesh, entre 60 e 80 Mesh e entre 80 e 100 Mesh,

não apresentaram uma variação significativa possuindo uma concentração média de 11,88% para o tempo de agitação de 2 horas e 10,78% para o tempo de agitação de 4 horas, conforme pode ser visto na Tabela 9 e na Figura 24.

Tabela 9 - Classificação Granulométrica do Extrato de Urucum Extraído com Agitação Mecânica Usando Água como Fase Líquida – Sementes C

T (h)	< 60 Mesh		60 – 80 Mesh		80 – 100 Mesh	
	M(g)	%N	M(g)	%N	M(g)	%N
2	0,894	10,31	0,134	11,63	0,185	13,69
4	1,875	11,81	0,596	10,29	0,145	10,23

Onde:

T = Tempo de agitação

M = Massa da fração

%N = Percentual de norbixina

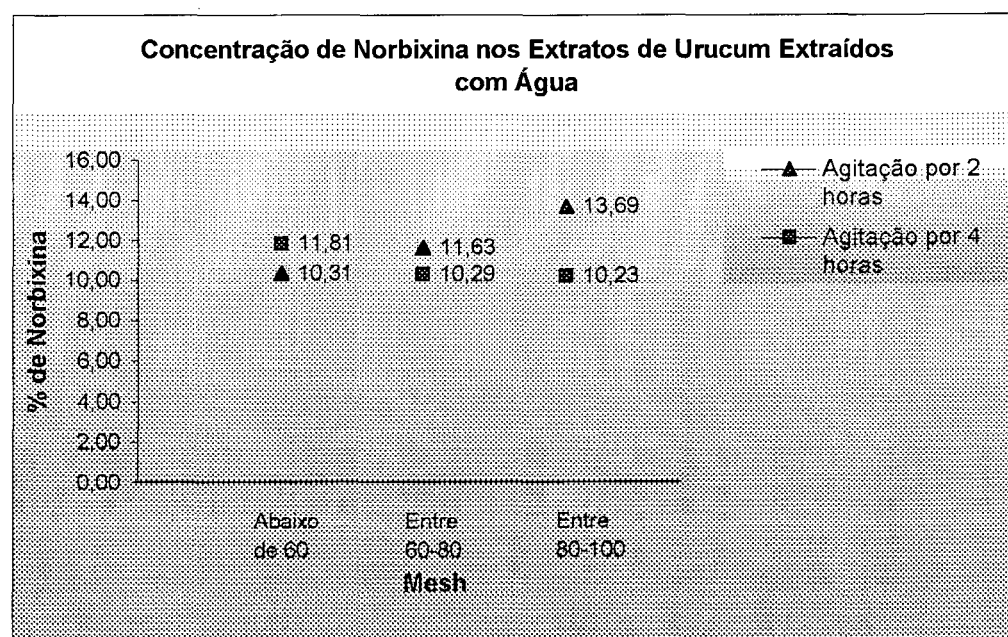


Figura 24 – Concentração de Norbixina nos Extratos de Urucum Extraídos com Água – Sementes C

Comparando-se o tempo de agitação de 2 e 4 horas, verifica-se que, para as sementes *C*, a agitação de 4 horas aumenta o rendimento da extração em 3 vezes e o rendimento mássico aumenta 3,4 vezes. Estes efeitos são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Efeito do Tempo de Agitação das Sementes *C* na Extração com Água

Tempo Agitação (h)	2	4
Rendimento Mássico %	0,67	2,27
Rendimento Extração %	4,86	14,83
% Norbix.(BS)	11,88	10,77

Com o objetivo de aumentar o rendimento do processo, realizaram-se testes de extração de corantes de urucum com água deixando as sementes em infusão durante um tempo determinado. Depois deste tempo de infusão, as sementes foram levadas à agitação, utilizando-se os mesmos parâmetros do processo de extração sem etapa prévia de infusão. Os resultados desta análise são apresentados nas Tabelas 11 e 12.

Tabela 11 – Efeito do Tempo de Infusão das Sementes *C* na Extração com Água e Tempo de Agitação de 2 horas

Tempo Infusão (h)	0	1	4
Rendimento Mássico %	0,67	1,84	2,37
Rendimento Extração %	4,86	23,95	22,06
% Norbix.(BS)	11,88	21,42	15,34

Tabela 12 – Efeito do Tempo de Infusão das Sementes *D* na Extração com Água e Tempo de Agitação de 2 horas

Tempo Infusão (h)	0	1	4
Rendimento Mássico %	5,48	2,99	6,31
Rendimento Extração %	51,80	20,97	49,85
% Norbix.(BS)	19,98	14,81	16,71

Como pode ser visto nas Tabelas 11 e 12, o processo pode ser bastante melhorado em termos de rendimento adotando-se uma etapa prévia de infusão. O aumento do rendimento da extração para as sementes *C*, em termos comparativos, de um processo de extração sem infusão em relação a um processo de extração com tempo de infusão de 1 hora é de 5 vezes e o aumento do rendimento mássico é de quase 3 vezes.

Adotando-se um tempo de infusão no processo de 4 horas, verifica-se uma estabilidade no rendimento da extração, comparado ao processo de infusão de 1 hora, porém o rendimento mássico aumenta em 1 vez. Já para as sementes *D*, a infusão de 4 horas ocasiona um aumento nos rendimentos da extração e mássico de mais de 2 vezes comparado à infusão de 1 hora.

Neste trabalho, o maior rendimento da extração obtido utilizando água como fase líquida em um processo de infusão de 4 horas e agitação de 2 horas foi de 49,85%. Em um processo semelhante, porém com agitação de 6 horas, as sementes foram colocadas em contato com água e esferas de vidro, sendo que BHALKAR e DUBASH (1983) obtiveram um rendimento da extração de 60,65%. Uma desvantagem da etapa de infusão seria o desenvolvimento de fungos para um tempo muito grande de processo.

4.2.1.1 – Sedimentação do Concentrado de Urucum

Os valores obtidos de altura do espessado em função do tempo são ilustrados na Tabela 13 e apresentados na forma gráfica nas Figuras 25 e 26. A Figura 27 mostra o

ensaio de sedimentação de uma amostra que sofreu infusão prévia de 4 horas. Estes gráficos são necessários para o projeto do sedimentador de extrato, que será visto no item 4.4.

Tabela 13 – Altura do Espessado em Função do Tempo para Sedimentação do Extrato de Urucum em Água

Tempo (min)	Ensaio 1 (cm)	Ensaio 2 (cm)
0	34,0	33,0
5	23,0	24,0
10	16,5	16,0
15	13,5	13,5
20	12,0	12,3
25	11,3	11,2
30	10,9	10,6
35	10,0	10,0
40	9,9	9,8
45	9,5	9,6
50	9,2	9,0
55	---	8,9
60	---	8,6
65	---	8,5
70	---	8,4
75	---	8,2
80	---	8,1
85	---	7,8
90	---	7,7
100	---	7,6
110	---	7,5
120	---	7,3
140	---	7,2
160	---	7,0
180	---	7,0
250	6,5	6,5

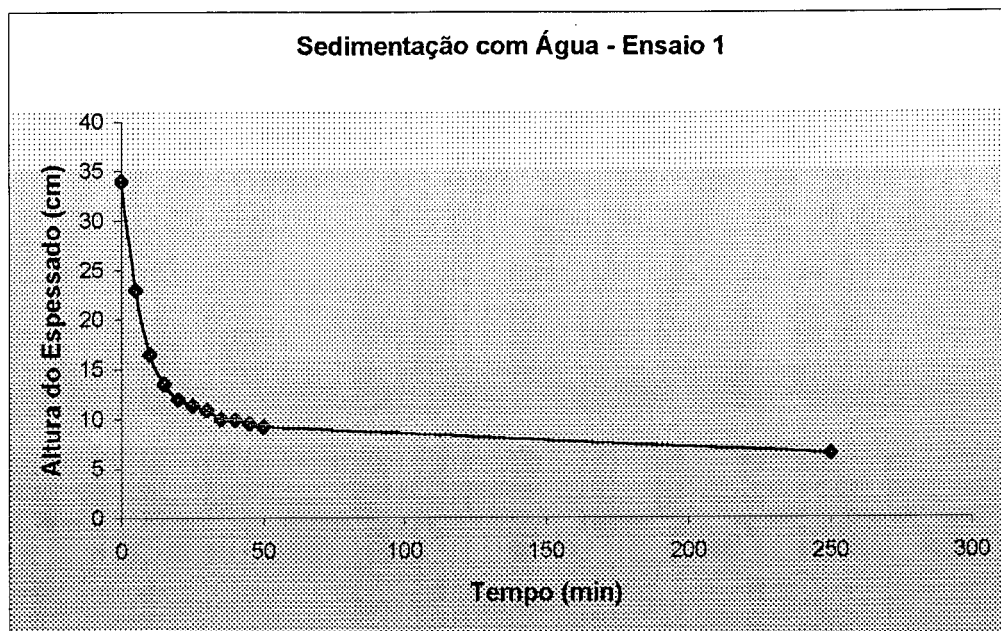


Figura 25 – Altura do Espessado de Concentrado de Urucum versus Tempo do Ensaio 1

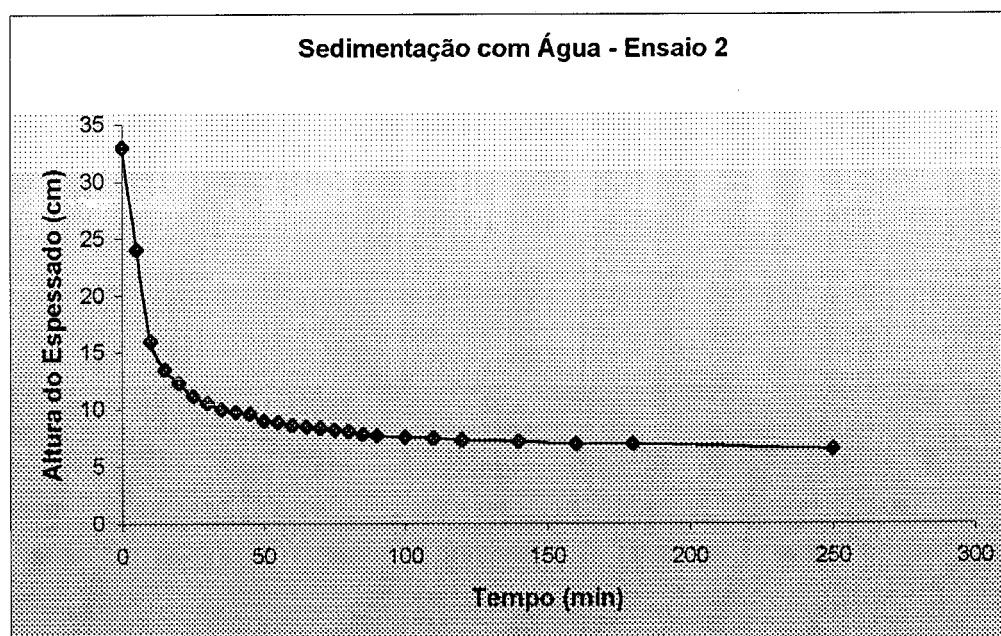


Figura 26 – Altura do Espessado de Concentrado de Urucum versus Tempo do Ensaio 2

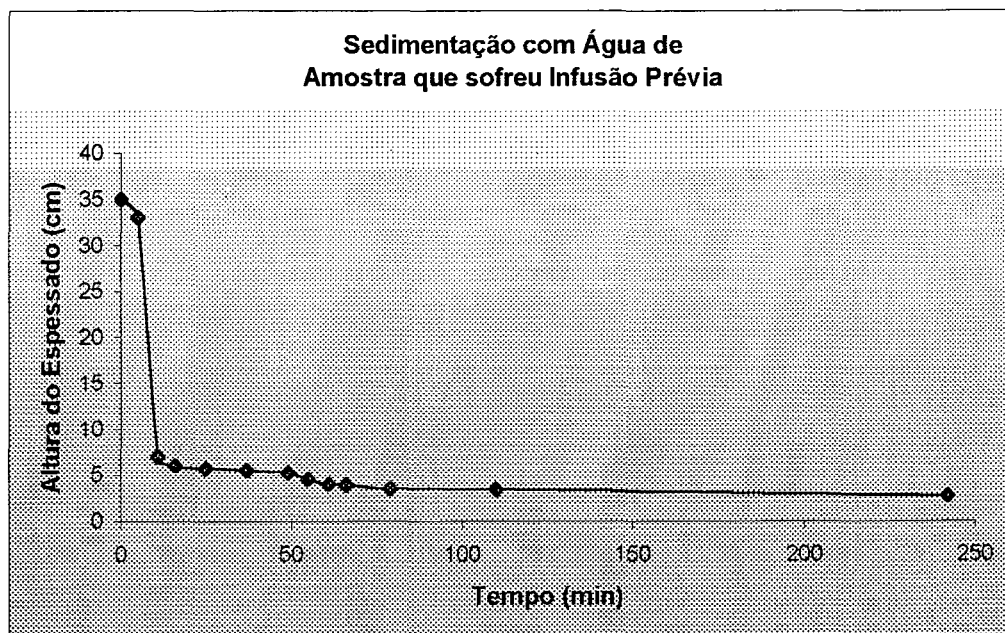


Figura 27 – Altura do Espessado de Concentrado de Urucum versus Tempo do Ensaio – Infusão Prévia de 4 horas em Água

4.2.2 – Extração Utilizando Etanol

Utilizando-se um procedimento análogo à extração com água, realizou-se a extração do concentrado de urucum com etanol absoluto. As sementes utilizadas foram as com tempo de estocagem de 3 meses e 1 mês, denominadas sementes *C* e *D*, respectivamente.

Os resultados experimentais são apresentados na Tabela 14, utilizando-se as seguintes condições: volume de sementes igual a 300 mL, volume de etanol igual a 600 mL e agitação a 540 rpm com hélice do tipo naval.

Tabela 14 – Rendimento e Condições de Operação da Extração de Corantes de Urucum com Etanol

Sementes	T (h)	MS (g)	MC (g)	%NE	%RM	%RN	%NS	%RE	%U
<i>D</i>	0,25	201,3	7,7	27,86	3,83	1,07	2,11	50,41	10,22
<i>D</i>	0,5	204,8	8,49	24,28	4,15	1,01	2,11	47,62	8,20
<i>D</i>	2	220,7	13,43	27,50	6,09	1,67	2,11	79,18	7,25

Onde:

T = Tempo de agitação

MS = Massa de sementes

MC = Massa do concentrado após secagem

%NE = Percentual de norbixina no concentrado (base seca)

%RM = Percentual do rendimento mássico calculado como a razão entre a massa do concentrado e a massa de sementes

%RN = Percentual do rendimento de norbixina calculado como a razão entre a massa de norbixina (base seca) e a massa de sementes

%NS = Percentual de norbixina nas sementes

%RE = Percentual do rendimento de extração calculado como a razão entre a massa de norbixina no concentrado (base seca) e a massa de norbixina nas sementes

%U = Percentual de umidade no extrato concentrado

Depois da etapa de agitação mecânica, o extrato em suspensão foi separado das sementes através de peneiração com malha de 10 Mesh. Em seguida, a suspensão foi colocada em uma proveta de 1000 mL para sedimentação do extrato, empregando-se os mesmos procedimentos da extração com água.

Comparando-se o tempo de agitação do processo, verifica-se que para as sementes *D* há um aumento de 1,6 vezes no rendimento da extração e no rendimento mássico, na agitação de 2 horas em relação a 0,25 horas, conforme mostra a Tabela 15.

Tabela 15 – Efeito do Tempo de Agitação das Sementes *D* na Extração com Etanol

Tempo Agitação (h)	0,25	0,5	2
Rendimento Mássico %	3,83	4,15	6,09
Rendimento Extração %	50,41	47,62	79,18
% Norbix.(BS)	27,86	24,28	27,50

O rendimento mássico na extração com agitação de 2 horas foi de 6,09%, utilizando sementes com 2,11% de norbixina. Em um processo semelhante, PRENTICE-HERNANDEZ e RUSIG (1992) obtiveram 4,33% e 5,21% utilizando sementes com 1,88% e 2,35% de bixina, respectivamente. BHALKAR e DUBASH (1983) utilizaram uma solução de clorofórmio a 25% em etanol numa relação de 1:4 (sementes:solvente) mantendo em agitação por 1 hora e substituindo o solvente a cada hora, obtendo um rendimento da extração de 76,48%. Neste trabalho o rendimento máximo encontrado, utilizando como solvente apenas o etanol foi de 79,18% em um processo de 2 horas de agitação.

Com objetivo de aumentar o rendimento do processo, realizaram-se testes de extração de corantes de urucum com etanol deixando as sementes em infusão durante tempos determinados. Depois deste tempo de infusão, as sementes foram levadas à agitação, utilizando-se os mesmos parâmetros do processo de extração sem etapa prévia de infusão. Os resultados são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16-A – Efeito do Tempo de Infusão das Sementes *C* na Extração com Etanol e Tempo de Agitação de 0,5 horas

Tempo Infusão (h)	0,5	4
Rendimento Mássico %	4,21	4,30
Rendimento Extração %	81,92	68,98
% Norbix. (BS)	32,06	26,39

Tabela 16-B – Efeito do Tempo de Infusão das Sementes *D* na Extração com Etanol e Tempo de Agitação de 0,5 horas

Tempo Infusão (h)	0	0,5
Rendimento Mássico %	4,15	3,93
Rendimento Extração %	47,62	47,88
% Norbix.(BS)	24,28	25,74

Tabela 16-C – Efeito do Tempo de Infusão das Sementes *D* na Extração com Etanol e Tempo de Agitação de 2 horas

Tempo Infusão (h)	0	4
Rendimento Mássico %	6,09	4,90
Rendimento Extração %	79,18	59,51
% Norbix.(BS)	27,50	25,67

Com base na Tabela 16, podemos observar que os valores dos rendimentos são bem semelhantes, ou seja, na extração de corantes de urucum com etanol não é vantagem adotar uma etapa de infusão antes da etapa de agitação. O desprendimento das partículas do ariolo da semente ocorre rapidamente, não necessitando portanto desta etapa de infusão.

4.2.2.1 – Sedimentação do Concentrado de Urucum

Os valores obtidos de altura do espessado em função do tempo são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 – Altura do Espessado em Função do Tempo para Sedimentação de Extrato de Urucum em Etanol

Tempo (min)	Ensaio 1 (cm)	Tempo (min)	Ensaio 2 (cm)
0	36,0	0	30,0
4	35,8	5	29,0
9	34,3	10	28,6
14	33,5	15	28,0
19	32,7	20	27,6
24	32,0	25	27,0
29	31,0	30	26,5
34	30,2	35	26,0
39	29,4	40	25,5
44	28,5	45	25,0
49	27,5	50	24,5
54	26,7	55	23,5
74	22,6	60	23,0
91	20,3	65	22,5
114	16,8	70	22,0
126	15,7	75	21,5
137	14,5	80	21,0
144	14,0	90	20,0
148	13,7	100	19,0
162	12,5	110	18,0
169	12,2	221	9,0
188	11,0	244	8,7
191	10,8	301	8,0
226	9,0	361	7,5
500	5,0	400	6,2

Os valores obtidos nos ensaios experimentais são apresentados na forma gráfica nas Figuras 28a e 28b. Estes gráficos são necessários para o projeto do sedimentador de extrato.

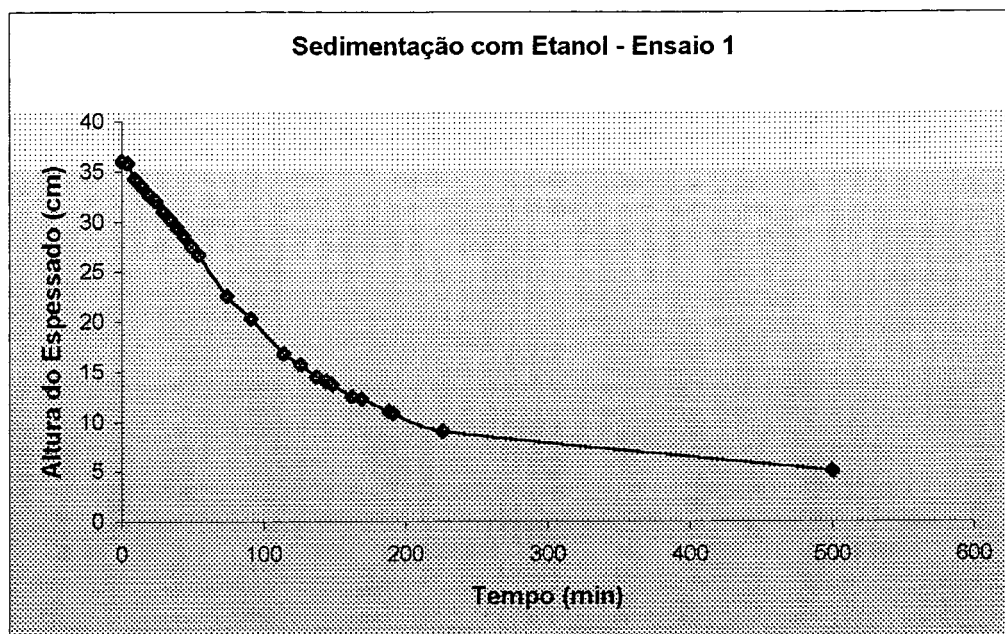


Figura 28a – Altura do Espessado de Concentrado de Urucum versus Tempo do Ensaio 1

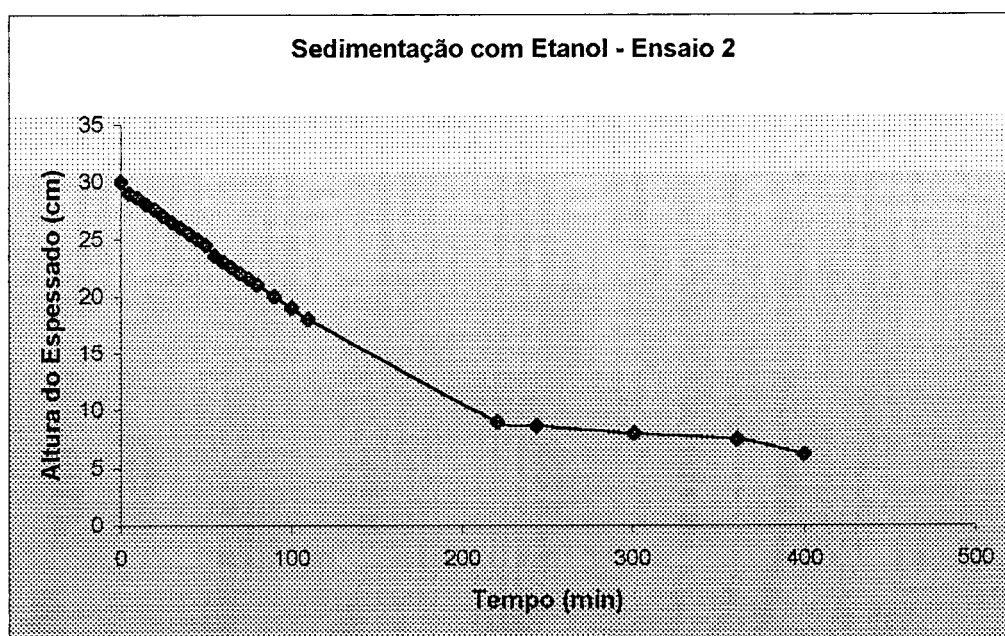


Figura 28b – Altura do Espessado de Concentrado de Urucum versus Tempo do Ensaio 2

Após a sedimentação completa do extrato, o sobrenadante foi removido e o espessado foi seco em estufa à temperatura de 60 °C. O extrato seco foi pulverizado em almofariz e colocado em dessecador.

Com os resultados obtidos na sedimentação, pode-se calcular a área de um sedimentador para uma dada capacidade de operação.

4.2.3 – Análise Comparativa dos Rendimentos Obtidos nos Processos de Extração Investigados

Para que se tenha uma visão geral do processo de extração por agitação mecânica, os dados de percentuais de norbixina e percentual de rendimento de extração versus tempo total de processo são apresentados nas Figuras a seguir.

A Figura 29 ilustra os percentuais de norbixina nos extratos obtidos no processo de agitação mecânica utilizando água e etanol como fase líquida, considerando o tempo total de processo, ou seja, somando o tempo de agitação com o tempo de infusão. Na Figura 30 tem-se um comparativo dos percentuais de rendimento de extração, considerando também o tempo total de processo.

Pelas Figuras 29 e 30, verifica-se um melhor rendimento nas extrações utilizando como fase líquida o etanol, ficando em torno de 75% para as sementes *C* e 70% para as sementes *D*, com um percentual de norbixina médio de 29% e 26%, respectivamente, em um intervalo de 50 a 360 minutos de tempo total de processo.

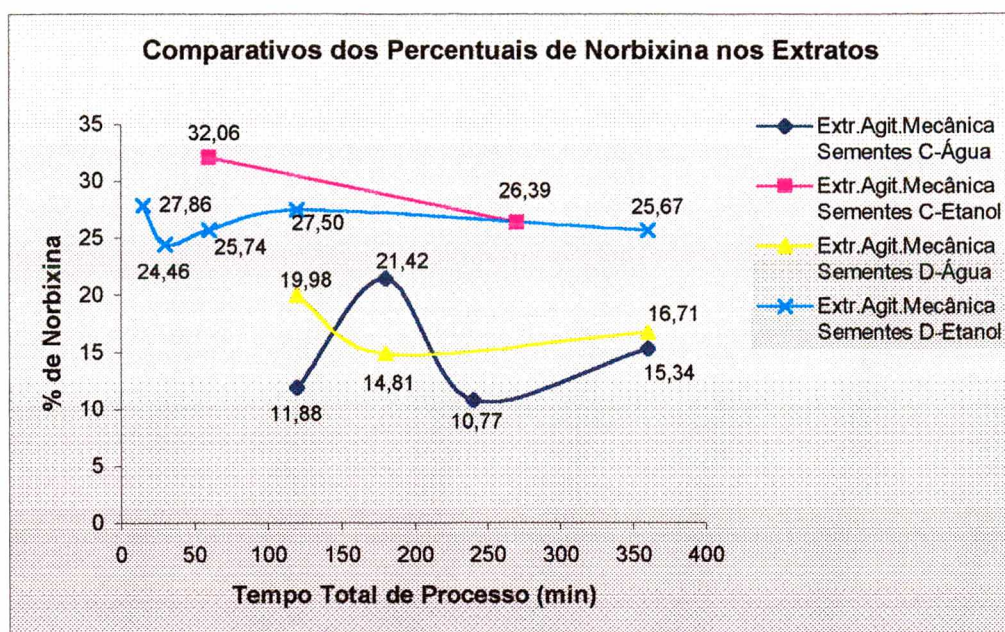


Figura 29 – Comparativo dos Percentuais de Norbixina nos Extratos

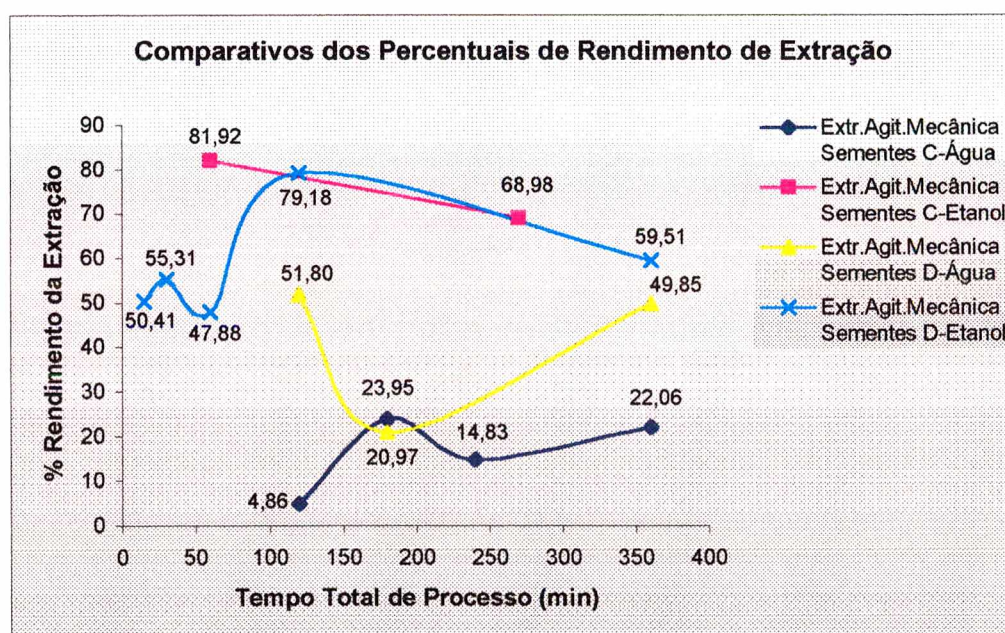


Figura 30 – Comparativo dos Percentuais de Rendimento de Extração

4.3 – Sedimentador Utilizando Etanol como Solvente

A concentração de partículas alimentadas e retiradas do sedimentador são iguais a 14,29 e 50,5 Kg/m³, respectivamente. Estas concentrações são calculadas a partir das Equações (4.3-1) e (4.3-2).

A seguir o método de Kynch será aplicado para o projeto da área do sedimentador considerando-se o processo de extração por agitação mecânica utilizando etanol, conforme descrito anteriormente. Neste caso a massa de urucum (M_{as}) foi de 211,3 g, possuindo um rendimento de extração (R) igual a 4,78%. A base de cálculo será de 30 ton/mês de sementes de urucum.

$$C_o = \frac{M_{as}R}{V_T} = C_o = \frac{211,3 \cdot 0,0478}{700} = C_o = 0,01429 \text{ g/mL} \Rightarrow C_o = 14,29 \text{ Kg/m}^3 \quad (4.3-1)$$

$$C_E = \frac{211,3 \cdot 0,0478}{200} \Rightarrow C_E = 0,0505 \text{ g/mL} \Rightarrow C_E = 50,5 \text{ Kg/m}^3 \quad (4.3-2)$$

A vazão de alimentação do sedimentador pode ser calculada conforme a Equação (4.3-3), sendo igual a 0,63 m³/h. Considera-se que a empresa opera 20 dias por mês, com um expediente de 8 horas diárias. O volume específico do etanol é igual a 789,0 Kg/m³.

$$Q_A = \frac{30000 \cdot 0,05 \text{ Kg}}{0,019 \text{ mês}} \cdot \frac{1 \text{ m}^3}{789 \text{ Kg}} \cdot \frac{1 \text{ mês}}{20 \text{ dias}} \cdot \frac{1 \text{ dias}}{8 \text{ h}} \Rightarrow Q_A = 0,63 \text{ m}^3/\text{h} \quad (4.3-3)$$

A concentração e a velocidade crítica foram encontradas pelo método de tentativa, onde utilizou-se o ensaio de sedimentação, apresentado na Figura 28a. A concentração C encontrada é igual a $30,50 \text{ Kg/m}^3$ e a velocidade u é igual a $0,01803 \text{ m/h}$.

Aplicando-se a Equação 3.5.2-1, tem-se que $S = 6,48 \text{ m}^2$, dando um diâmetro do sedimentador igual a $2,88 \text{ m}$.

4.4 – Sedimentador Utilizando Água como Solvente

A concentração de partículas alimentadas e retiradas do sedimentador são iguais a $7,15$ e $25,0 \text{ Kg/m}^3$, respectivamente. Estas concentrações são calculadas a partir das Equações (4.4-1) e (4.4-2).

Analogamente ao procedimento anterior, será aplicado o método de Kynch, para o projeto da área do sedimentador considerando-se o processo de extração por agitação mecânica utilizando água. Neste caso a massa de urucum (M_{as}) foi de $220,5\text{g}$, possuindo um rendimento de extração (R) igual a $2,27\%$. A base de cálculo será de 30 ton/mês de sementes de urucum.

$$C_o = \frac{M_{as}R}{V_T} = C_o = \frac{220,5 \cdot 0,0227}{700} = C_o = 0,00715 \text{ g/mL} \Rightarrow C_o = 7,15 \text{ Kg/m}^3$$

(4.4-1)

$$C_E = \frac{220,5 \cdot 0,0227}{200} \Rightarrow C_E = 0,0250 \text{ g/mL} \Rightarrow C_E = 25,0 \text{ Kg/m}^3 \quad (4.4-2)$$

A vazão de alimentação do sedimentador pode ser calculada conforme a Equação (4.4-3), sendo igual a $0,56 \text{ m}^3/\text{h}$. Considera-se que a empresa opera 20 dias por mês, com um expediente de 8 horas diárias. O volume específico da água é igual a $1000,0 \text{ Kg/m}^3$.

$$Q_A = \frac{30000 \cdot 0,0227 \text{ Kg}}{0,00759 \text{ mês}} \cdot \frac{1 \text{ m}^3}{1000 \text{ Kg}} \cdot \frac{1 \text{ mês}}{20 \text{ dias}} \cdot \frac{1 \text{ dias}}{8 \text{ h}} \Rightarrow Q_A = 0,56 \text{ m}^3/\text{h} \quad (4.4-3)$$

A concentração e a velocidade crítica foram encontradas pelo método de tentativa, onde utilizou-se o ensaio de sedimentação, apresentado na Figura 26. A concentração C encontrada é igual a $20,34 \text{ Kg/m}^3$ e a velocidade u é igual a $0,0312 \text{ m/h}$.

Aplicando-se a Equação 3.5.2-1, tem-se que $S = 1,176 \text{ m}^2$, dando um diâmetro do sedimentador igual a $1,22 \text{ m}$.

4.5 – Análise Espectrofotométrica e Cromatográfica - HPLC

A Figura 31 apresenta o espectro de absorção do padrão de bixina em solução de NaOH 0,1 N. As absorbâncias máximas foram 481 e 452 nm. As Figuras 32 a 35 apresentam a o espectro de absorção de várias amostras em solução de NaOH 0,1 N e a Figura 36 apresenta o espectro de absorção das sementes D em solução de KOH 0,5%.

As absorbâncias máximas encontradas estão na Tabela 18. Os valores encontrados estão de acordo com as absorbâncias máximas encontradas por REITH e GIELEN (1971) e SCOTTER *et al.* (1994).

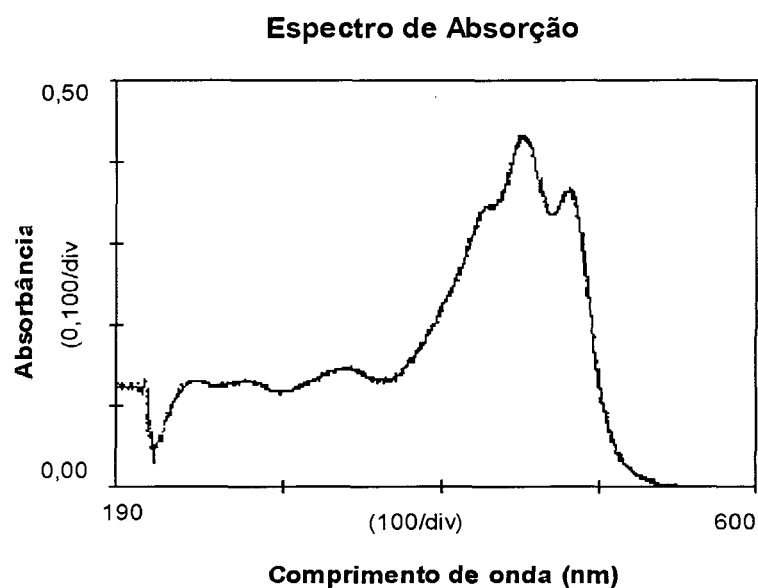


Figura 31 – Espectro de Absorção do Padrão de Bixina em Solução de NaOH
0,1N

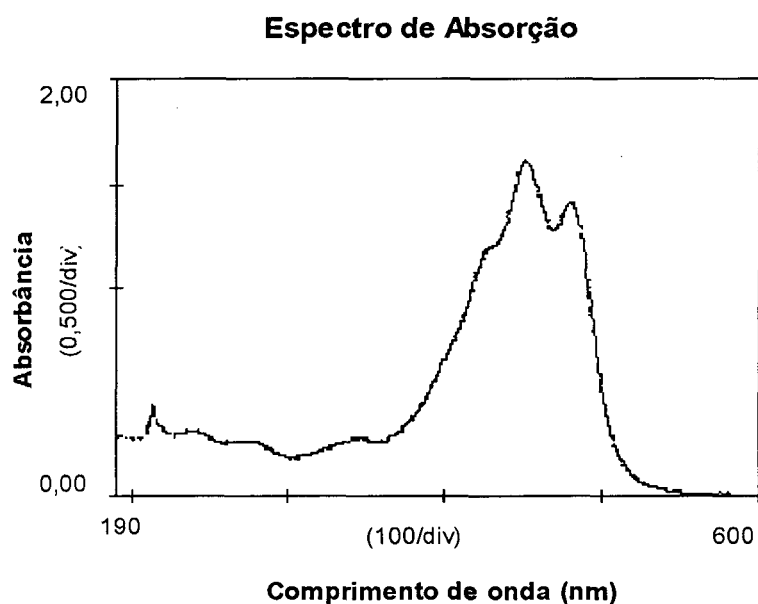


Figura 32 – Espectro de Absorção de Extrato Concentrado Proveniente da
Extração das Sementes *D* com Etanol com Agitação de 30 minutos

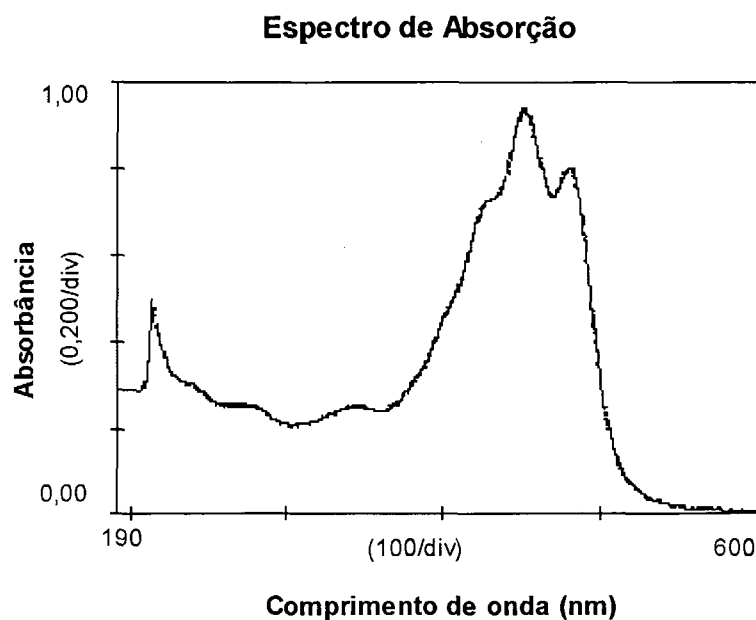


Figura 33 – Espectro de Absorção de Extrato Concentrado Proveniente da Extração das Sementes *D* com Água com Infusão de 1 hora e Agitação de 2 horas

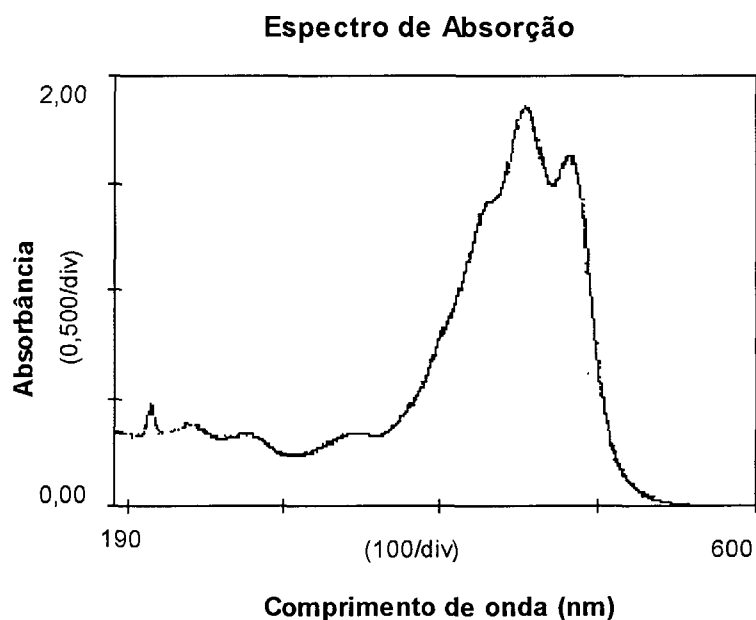


Figura 34 – Espectro de Absorção de Extrato Concentrado Proveniente da Extração das Sementes *C* com Etanol com Infusão de 30 minutos e Agitação de 30 minutos

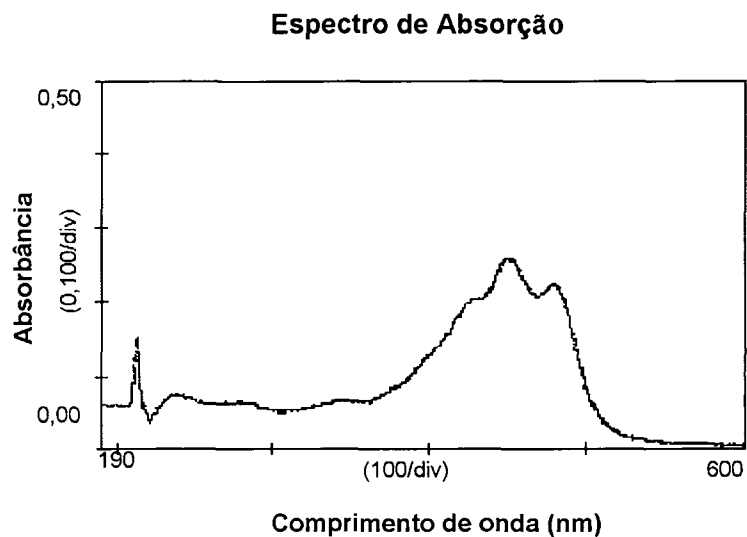


Figura 35 – Espectro de Absorção de Extrato Concentrado Proveniente da Extração das Sementes *C* com Água com Infusão de 4 horas e Agitação de 2 horas

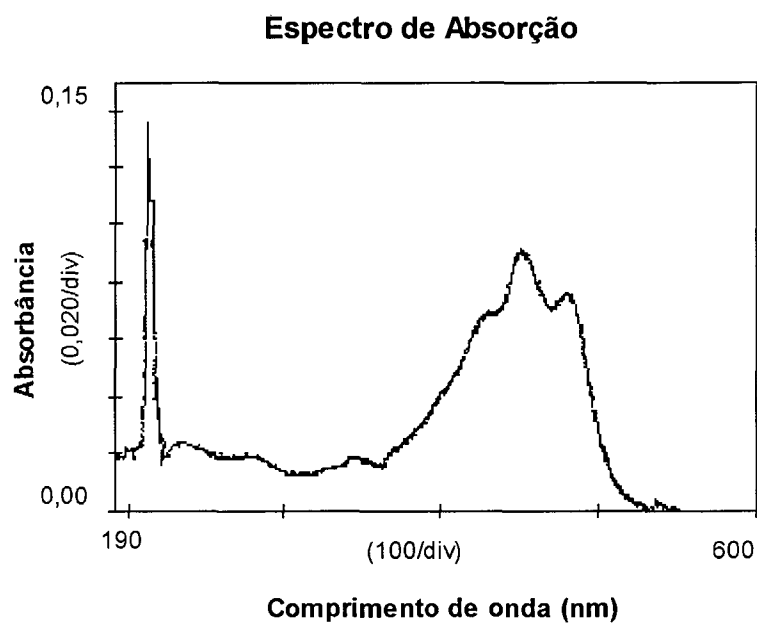


Figura 36 – Espectro de Absorção das Sementes *D* em solução de KOH 0,5%

Tabela 18 – Absorbâncias Máximas dos Espectros das Figuras 32 a 36

Figura	Absorbância Máxima (nm)	Meio de Leitura
Figura 32	481 e 453	Solução de NaOH 0,1 N
Figura 33	480 e 452	Solução de NaOH 0,1 N
Figura 34	481 e 453	Solução de NaOH 0,1 N
Figura 35	481 e 453	Solução de NaOH 0,1 N
Figura 36	481 e 452	Solução de KOH 0,5%

As Figuras 37 a 40 mostram os cromatogramas do padrão de bixina e de algumas amostras, utilizando-se como condição cromatográfica a técnica descrita por BARONCELLI *et al*, 1997. Em seu artigo, a norbixina deveria ter um tempo de retenção de cerca de 14 minutos, porém a realizada neste trabalho teve um tempo de retenção de 24 minutos. Isto pode ser explicado devido à sensibilidade das análises cromatográficas, em que podem ocorrer mudanças significativas nos cromatogramas, mesmo quando se tem pequenas diferenças na fase móvel, diferente marca de coluna e do equipamento, etc.

Foi utilizado um sistema isocrático, coluna Nucleosil 120-5 C18 (250 X 4,6 mm) e pré-coluna Nucleosil 5 C18 120 (30 X 4,6 mm), detecção UV-Visível a 405 nm, fase móvel: metanol:água:ácido acético (87:12:1) a 1 mL/min. A fase móvel foi filtrada em membrana milipore de 0,45 µm. As amostras para a análise foram dissolvidas em metanol e filtradas nas mesmas condições da fase móvel.

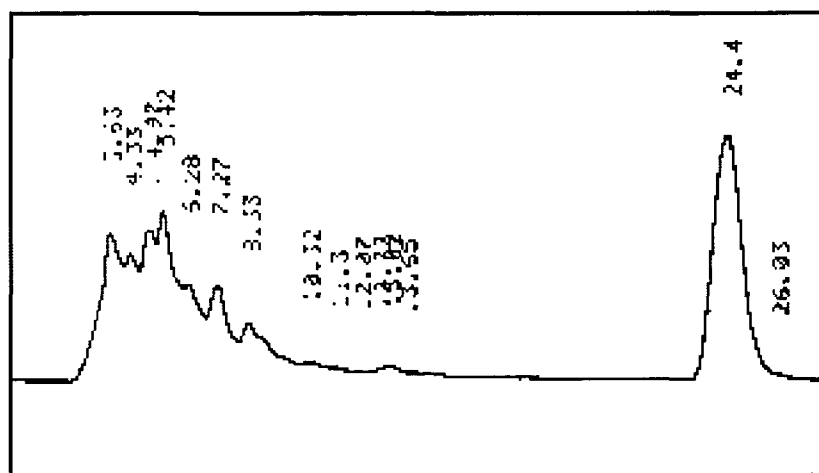


Figura 37 – Cromatograma do Padrão de Bixina em Metanol:Água:Ácido Acético (87:12:1) a 300 ppm

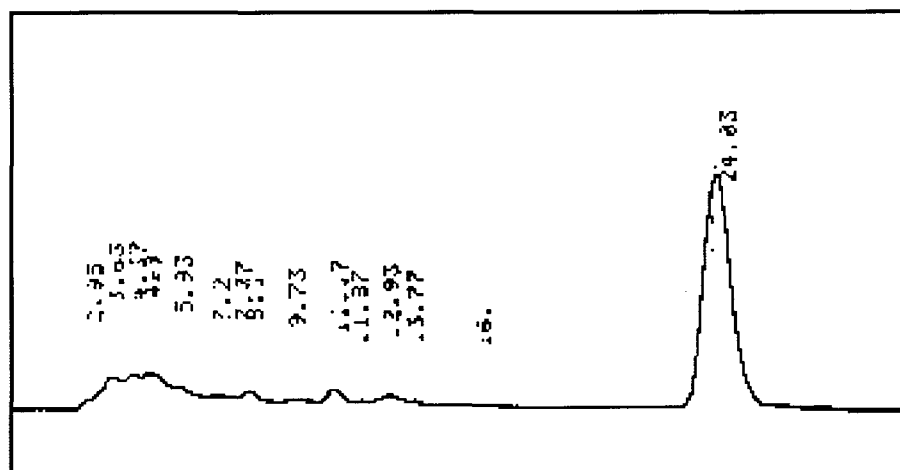


Figura 38 – Cromatograma de Extrato de Urucum com Granulometria entre 100 e 250 Mesh Extraído pelo Moinho de Bolas das Sementes C em Metanol:Água:Ácido Acético (87:12:1) a 300 ppm

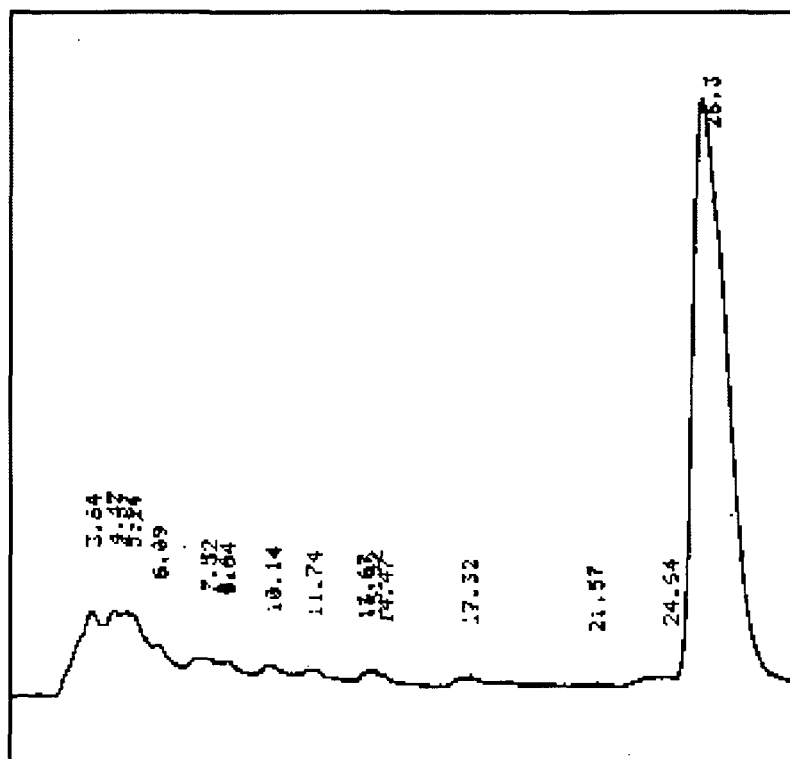


Figura 39 – Cromatograma de Extrato de Urucum com Granulometria entre 100 e 250 Mesh Extraído pelo Moinho de Bolas das Sementes *A* em Metanol:Água:Ácido Acético (87:12:1) a 2000 ppm

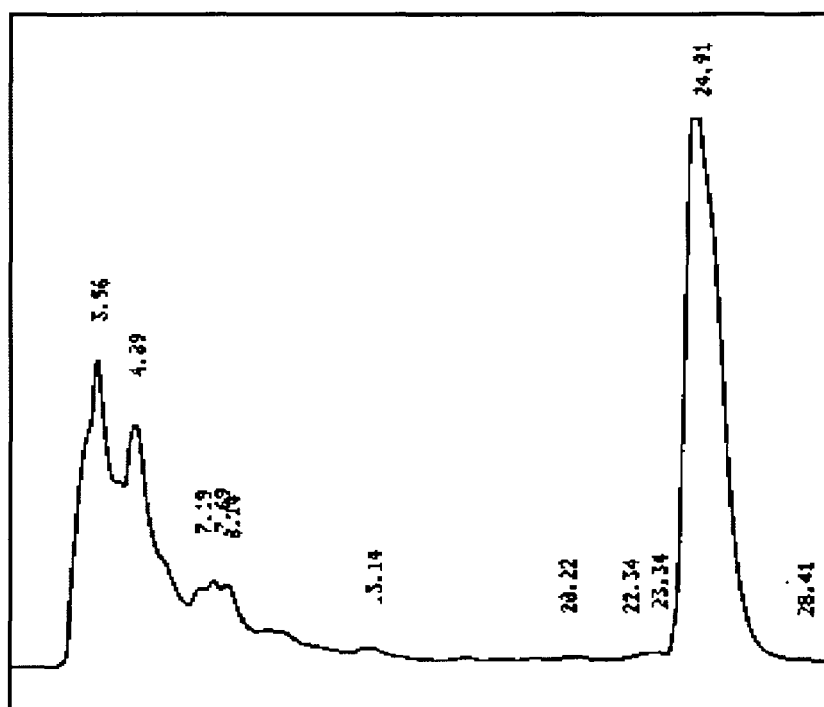


Figura 40 – Cromatograma de um Concentrado de Extrato de Urucum em Metanol:Água:Ácido Acético (87:12:1) a 300 ppm

Outra técnica utilizada, descrita por ROUSEFF (1988), consiste na separação isocrática utilizando como fase móvel tetrahidrofurano:água (58:42) a 1mL/min, coluna Nucleosil 120-5 C18 (250 X 4,6 mm) e pré-coluna Nucleosil 5 C18 120 (30 X 4,6 mm), detecção UV-Visível a 464 nm.

A separação ocorreu rapidamente em aproximadamente 8 minutos, conforme pode ser visto nas Figuras 41 e 42, que representam respectivamente, a amostra de padrão de bixina a 40 ppm e a amostra do extrato das sementes *C*, obtido pela extração mecânica e da granulometria entre 100-250 Mesh, em concentração de 100 ppm. Como executado na técnica anterior, a fase móvel foi filtrada em membrana milipore de 0,45 μ m e as amostras para a análise foram dissolvidas nesta e filtradas nas mesmas condições.

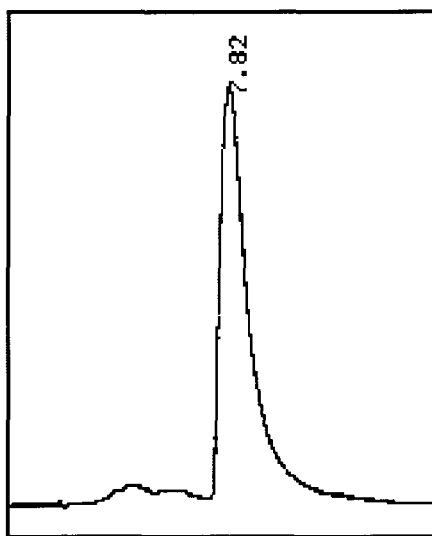


Figura 41 – Cromatograma do Padrão de Bixina em Tetrahidrofurano:Água (58:42) a 40 ppm

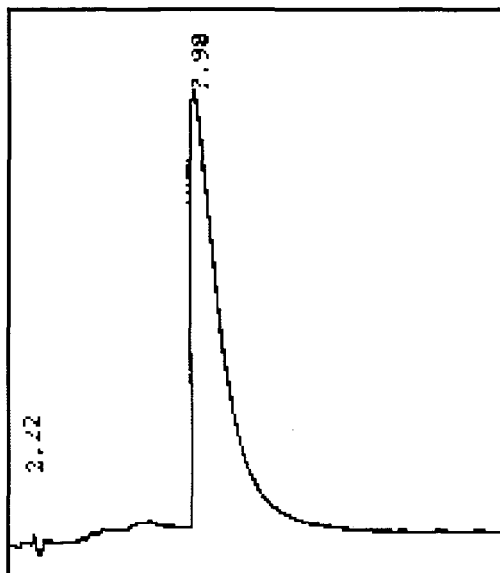


Figura 42 – Cromatograma de Extrato de Urucum com Granulometria entre 100 e 250 Mesh Extraído pelo Moinho de Bolas das Sementes C em Tetrahidrofurano:Água (58:42) a 100 ppm

A Tabela 19 mostra o comparativo dos percentuais de norbixina de algumas amostras das análises feitas por cromatografia líquida e por espectrofotometria e a variação do percentual obtido por cromatografia com relação a análise espectrofotométrica.

Devido ao fato de não se ter um padrão analítico puro de bixina, utilizou-se como referência o teor de norbixina do padrão obtido pela análise espectrofotométrica, para as análises cromatográficas das amostras.

Nota-se a instabilidade dos resultados obtidos por cromatografia em relação a análise espectrofotométrica, reforçando que a análise quantitativa mais adequada ainda é a espectrofotometria conforme CARVALHO *et al.* (1993), e também, pela falta de padrões analíticos puros para a cromatografia.

Tabela 19 – Comparativo dos Percentuais de Norbixina das Análises Cromatográficas e Espectrofotométricas

Amostra	% Norbixina por Cromatografia	% Norbixina por Espectrofotometria	Variação(*)
Padrão	18,20%	18,20%	-
DE001 – 40 ppm	6,42%	5,77%	11,26%
DE003 – 21,31 ppm	28,09%	25,67%	9,43%
DE003 – 40 ppm	21,61%	25,67%	15,82%
DE005 – 44 ppm	24,18%	25,19%	4,01%
DE005 – 66 ppm	26,11%	25,19%	3,65%

(*) Variação entre o percentual de norbixina obtido por cromatografia em relação a análise espectrofotométrica.

4.6 – Purificação da Bixina

Com a finalidade de aumentar o percentual de bixina no extrato concentrado, algumas amostras foram submetidas a um processo de purificação utilizando a solubilização em solução de NaOH e precipitação com solução de HCl, e outras, utilizando um processo de purificação com ácido acético glacial, descritas a seguir.

Uma amostra de 20,0547 g de concentrado obtido através de extração mecânica, com granulometria entre 100 e 250 Mesh de frações misturadas das sementes *A* e *B* com concentração inicial de norbixina de 6,04% foi dissolvida em 500 mL de solução de NaOH 0,1N, tendo como pH inicial 12,45. A solução foi então filtrada a vácuo com papel filtro para a retirada dos sólidos insolúveis. Desta solução, o pH foi baixado para 4,99 com o auxílio de uma solução de HCl 10%. A solução foi mantida em repouso por 24 horas. Após, a solução foi filtrada a vácuo com papel filtro e a pasta concentrada foi

dividida em duas partes onde uma foi lavada com água destilada e a outra não. Os concentrados foram então secos em estufa a 40 °C por 8 horas.

A concentração de norbixina na amostra purificada lavada com água destilada foi de 10,97% e a que não sofreu lavagem, foi de 11,59%. Verifica-se que não houve alteração significativa devido ao processo de lavagem, dando uma concentração média de norbixina igual a 11,28%. O rendimento mássico do processo foi de 26,98% e o rendimento da extração foi de 51,77%.

O mesmo processo foi repetido com a mesma amostra, porém com uma quantidade de 0,5g, sendo obtida para este caso, a concentração em norbixina da amostra purificada de 12,08%. O rendimento mássico do processo foi de 24,06% e o rendimento da extração foi de 48,12%.

Em um outro processo de purificação, uma amostra de 5 g de concentrado obtido através de extração mecânica, com granulometria entre 100 e 250 Mesh de frações misturadas das sementes *A* e *B* foi dissolvida em 50 mL de ácido acético glacial.

Deixou-se a solução entrar em ebulição e foi mantido assim durante 5 minutos para a solubilização da bixina no ácido. A solução foi succionada com o auxílio de uma bomba de vácuo para um filtro sinterizado hermeticamente fechado para separar da solução as impurezas insolúveis. A solução filtrada foi então transferida para um Becker e resfriada a uma temperatura de 9 °C durante 48 horas. Após este tempo, a solução foi centrifugada a 1000 rpm durante 20 minutos e a pasta concentrada foi lavada com água destilada e novamente centrifugada. Este procedimento foi repetido mais duas vezes,

com a finalidade de remover o ácido acético remanescente. Após a etapa de centrifugação e lavagem, o concentrado foi seco à temperatura ambiente em uma câmara com circulação de ar.

A concentração inicial de norbixina na amostra do concentrado obtido através de extração mecânica, com granulometria entre 100 e 250 Mesh de frações misturadas das sementes *A* e *B* utilizada no processo de purificação, foi de 6,04% e a concentração de norbixina desta amostra purificada utilizando a solubilização em ácido acético foi de 42,97%. Também foi analisada a concentração de norbixina no resíduo remanescente no filtro, do processo de filtração, o qual apresentou um teor de 0,27% de norbixina.

O rendimento mássico do processo foi de 11,68% e o percentual do rendimento de extração foi de 83,11%. A Figura 43 mostra o Padrão de bixina e a Figura 44 mostra a amostra purificada através de ácido acético, de extrato de sementes *A* e *B* com classificação granulométrica entre 100 e 250 Mesh.

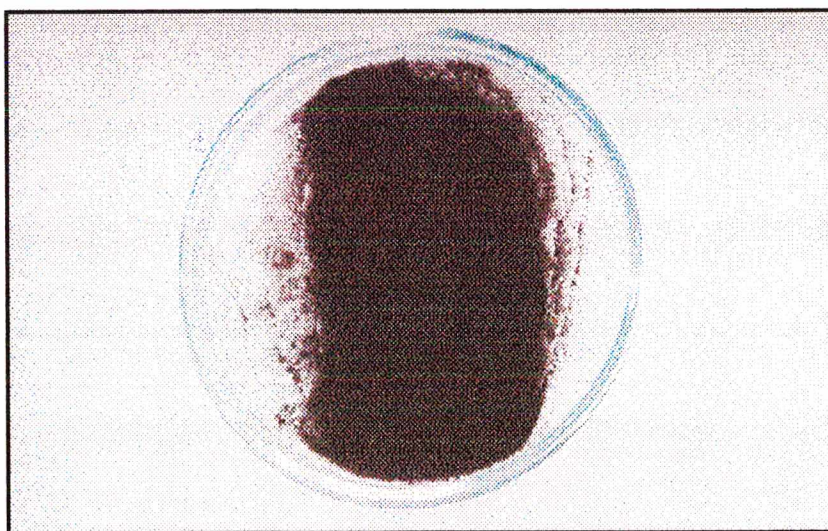


Figura 43 – Padrão de Bixina

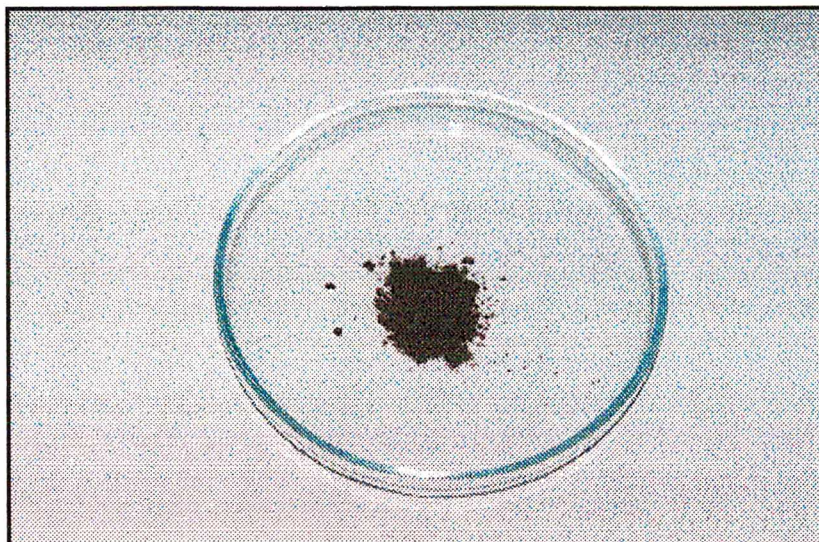


Figura 44 – Amostra Purificada de Extrato de Sementes *A* e *B* entre 100 e 250 Mesh

A micrografia ótica com um aumento de 40 vezes é apresentada nas Figuras 45 e 46 para a amostra inicial e para a amostra purificada obtida, respectivamente. As Figuras 47 e 48 ilustram a estrutura do extrato de urucum e da amostra purificada, onde no último caso pode ser observado o arranjo cristalino das mesmas. Estas figuras foram obtidas utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura. Observa-se uma formação cristalina bem definida na amostra purificada.

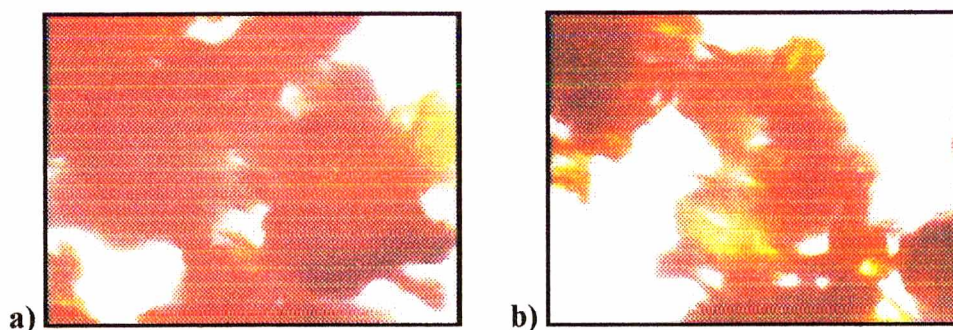


Figura 45 – Micrografia Ótica da Amostra de Extrato de Sementes *A* e *B* entre 100 e 250 Mesh

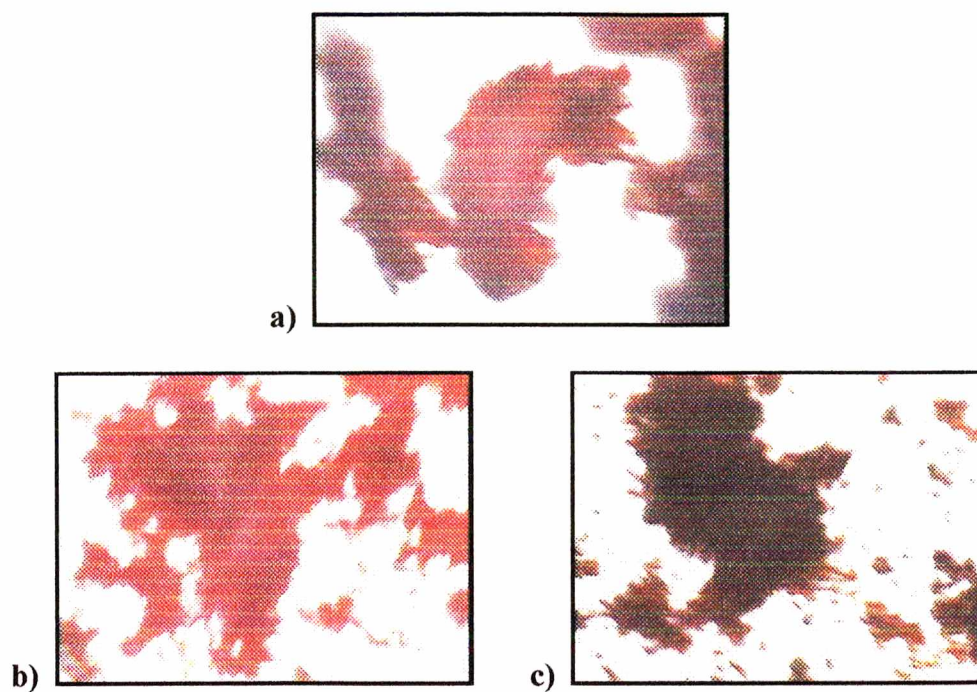


Figura 46 – Micrografia Ótica da Amostra Purificada de Extrato de Sementes A e B entre 100 e 250 Mesh

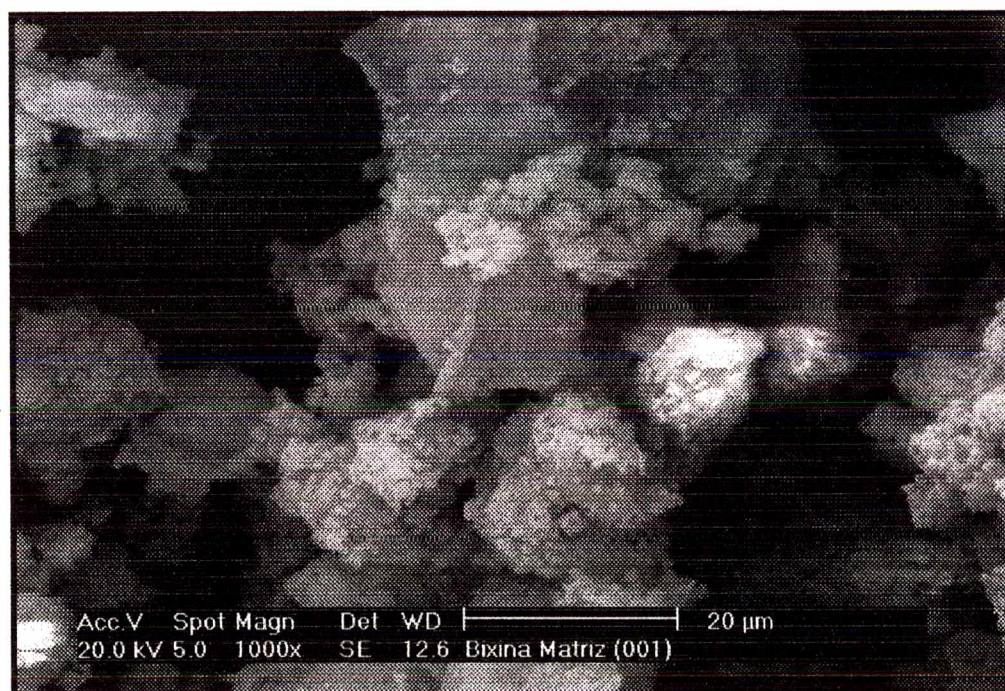


Figura 47a – Micrografia Eletrônica de Varredura do Extrato de Urucum

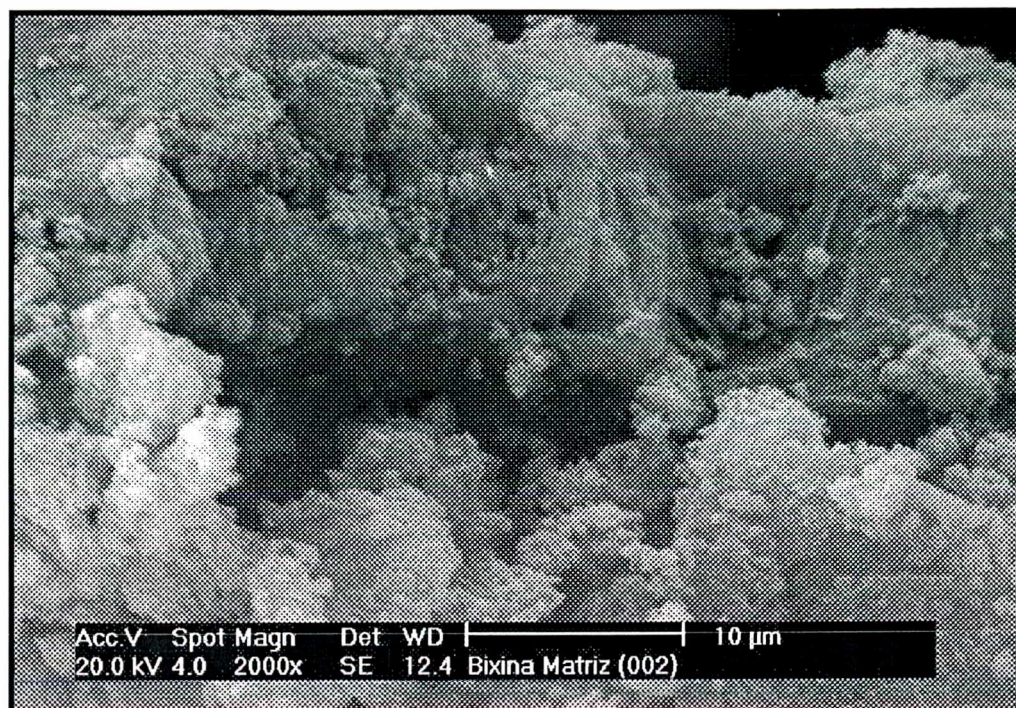


Figura 47b – Micrografia Eletrônica de Varredura do Extrato de Urucum

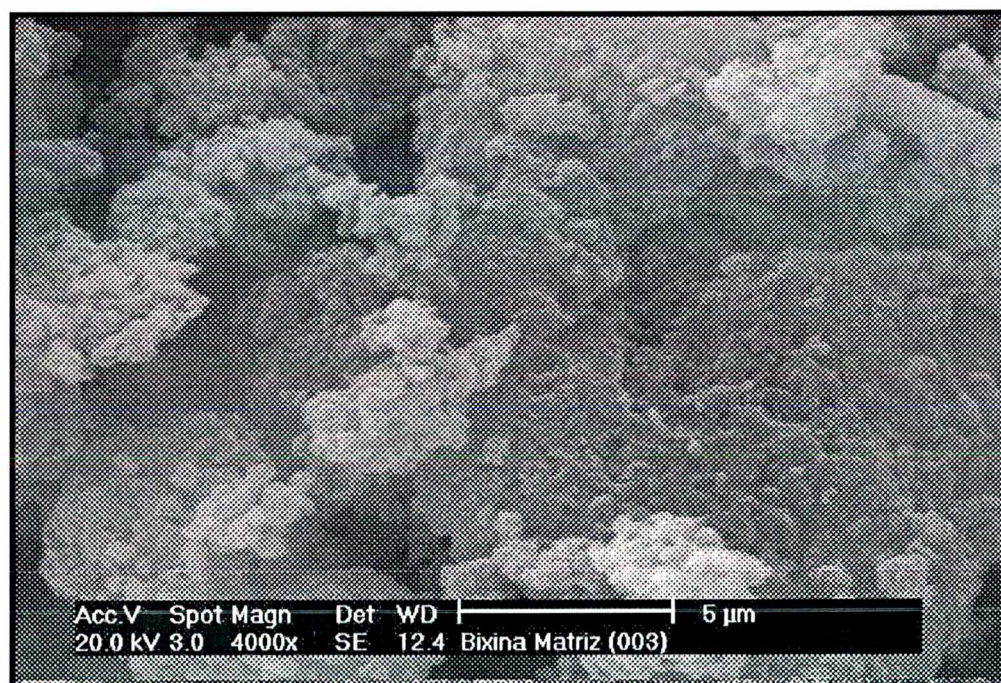


Figura 47c – Micrografia Eletrônica de Varredura do Extrato de Urucum

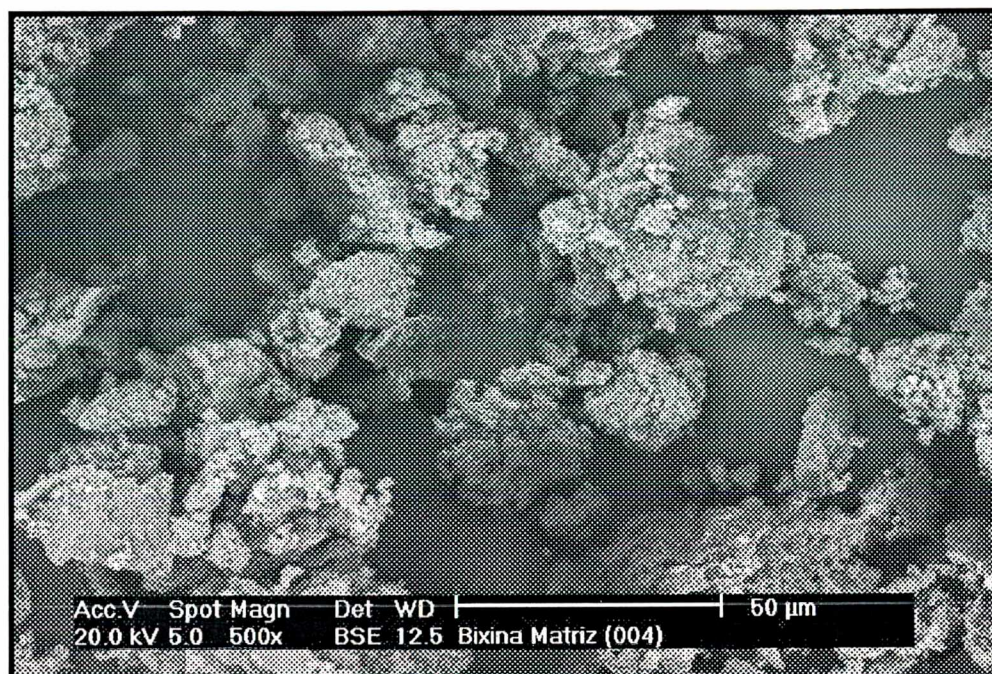


Figura 47d – Micrografia Eletrônica de Varredura do Extrato de Urucum

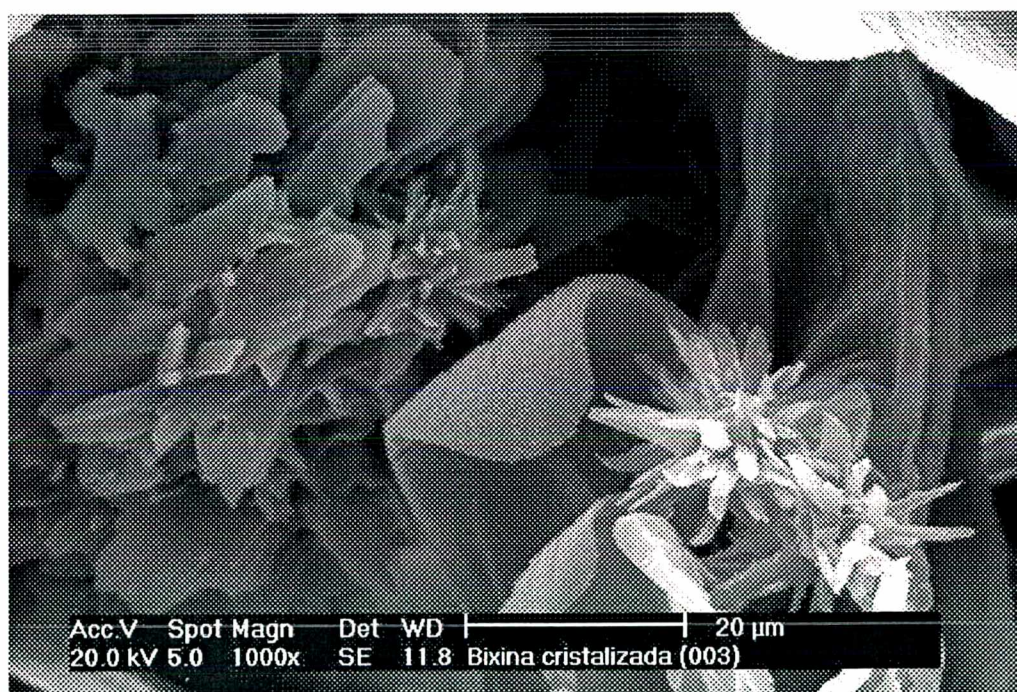


Figura 48a – Micrografia Eletrônica de Varredura da Amostra Purificada do Extrato de Urucum

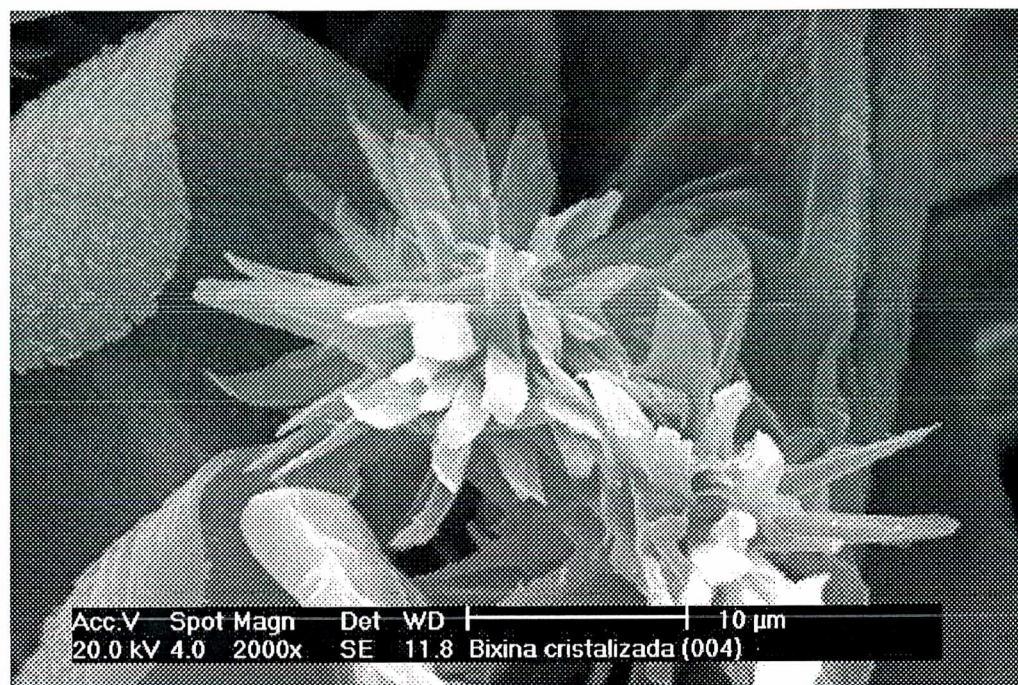


Figura 48b – Micrografia Eletrônica de Varredura da Amostra Purificada do Extrato de Urucum

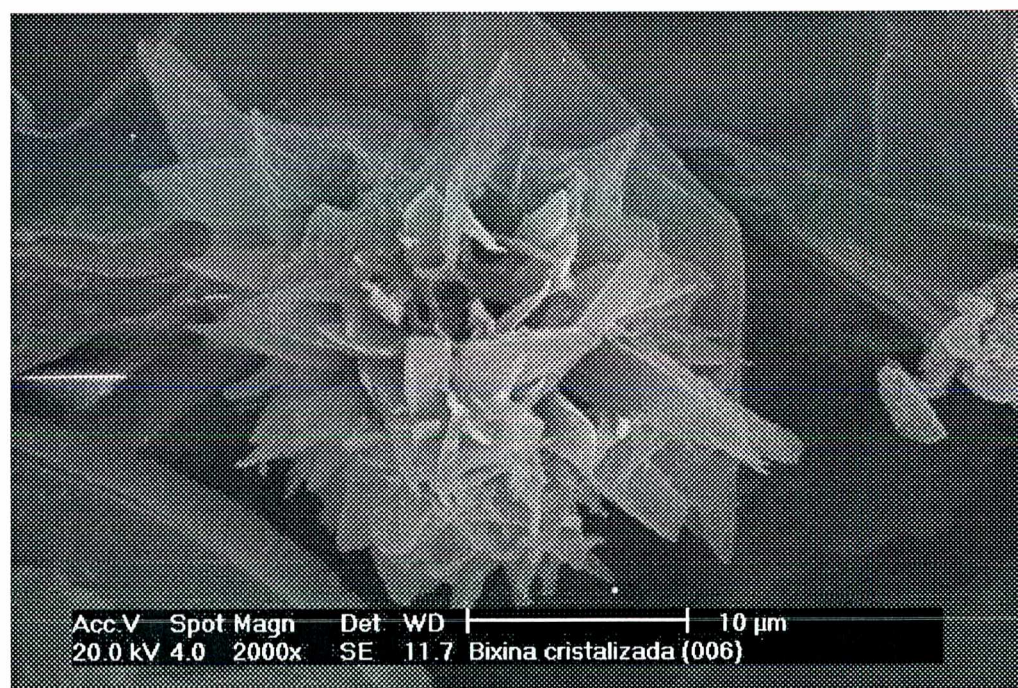


Figura 48c – Micrografia Eletrônica de Varredura da Amostra Purificada do Extrato de Urucum

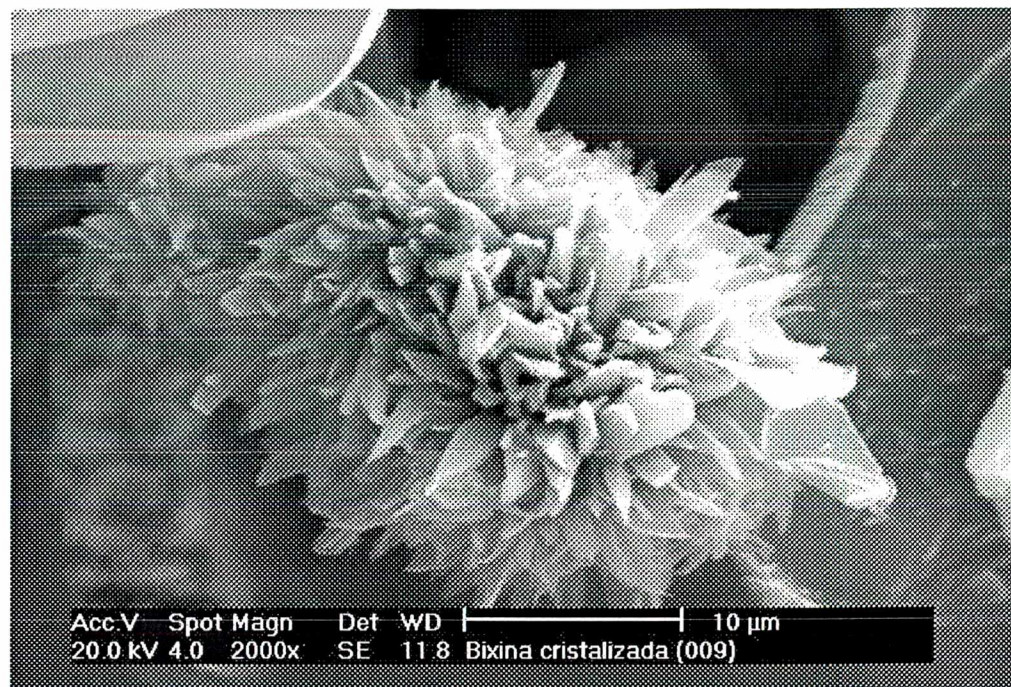


Figura 48d – Micrografia Eletrônica de Varredura da Amostra Purificada do Extrato de Urucum

Um outro procedimento utilizado para a extração e purificação do corante de urucum foi a utilização do extrator a GLP, patente nº PI9804199-1/INPI, de 16/10/1998.

Uma amostra de concentrado obtido através de extração mecânica, com granulometria entre 80 e 100 Mesh de frações misturadas das sementes *A* e *B*, com concentração inicial de norbixina de 5,12%, é solubilizada em GLP, em uma câmara pressurizada. A solução de corante no GLP passa através de um filtro sinterizado, sendo coletada em uma outra câmara. Na sequência a solução é despressurizada em um frasco coletor.

Foi obtido um produto líquido no frasco coletor com uma coloração avermelhada, evidenciando a remoção de óleo que estaria contido no concentrado de corante de urucum e algum percentual de corante. Este líquido apresentou um

percentual de norbixina de 0,73% e a amostra que sofreu a extração apresentou um percentual de 5,50%.

Como pode-se verificar, a amostra após a extração apresenta um pequeno aumento no percentual de norbixina, de 7,42%, evidenciando a extração de óleo do concentrado.

Este processo de extração merece maiores estudos, como a caracterização do óleo extraído e concentração deste, podendo ser utilizado como uma possível etapa que antecederia ao processo de purificação ou ainda, ao processo de extração, com o objetivo de remoção do óleo de urucum no concentrado ou nas sementes.

Um importante aspecto deste processo é o fato da total remoção do solvente por despressurização, evitando desta forma a contaminação do corante extraído.

4.7 – Extração do Óleo das Sementes

A extração do óleo foi realizada utilizando-se um extrator do tipo Soxhlet. No extrator foi colocado um cartucho feito de papel filtro, e este preenchido com sementes A (5 anos de estocagem) que foram previamente trituradas com o objetivo de aumentar a área superficial e proporcionar um ataque mais eficiente do solvente utilizado na extração, que foi o hexano e o éter de petróleo. Os parâmetros utilizados, bem como o rendimento do processo são mostrados na Tabela 20 e Figura 49, respectivamente.

Tabela 20 – Parâmetros do Processo de Extração do Óleo das Sementes de Urucum – Sementes A

Tempo (h)	Massa Sementes (g)	Massa Óleo (g)	Volume Solvente	Tipo de Solvente	% Rendimento
1,25	111,46	2,38	500	Éter de Petróleo	2,13
4,00	52,02	1,50	300	Éter de Petróleo	2,89
4,00	117,83	3,11	500	Éter de Petróleo	2,64
6,00	77,55	2,04	300	Éter de Petróleo	2,62
3,00	100,17	1,63	250	Hexano	1,63
4,00	100,21	2,09	300	Hexano	2,08
6,00	101,63	2,14	300	Hexano	2,11
6,50	51,30	1,20	300	Hexano	2,34
6,50	103,30	2,16	250	Hexano	2,09
13,50	102,77	2,05	300	Hexano	2,00

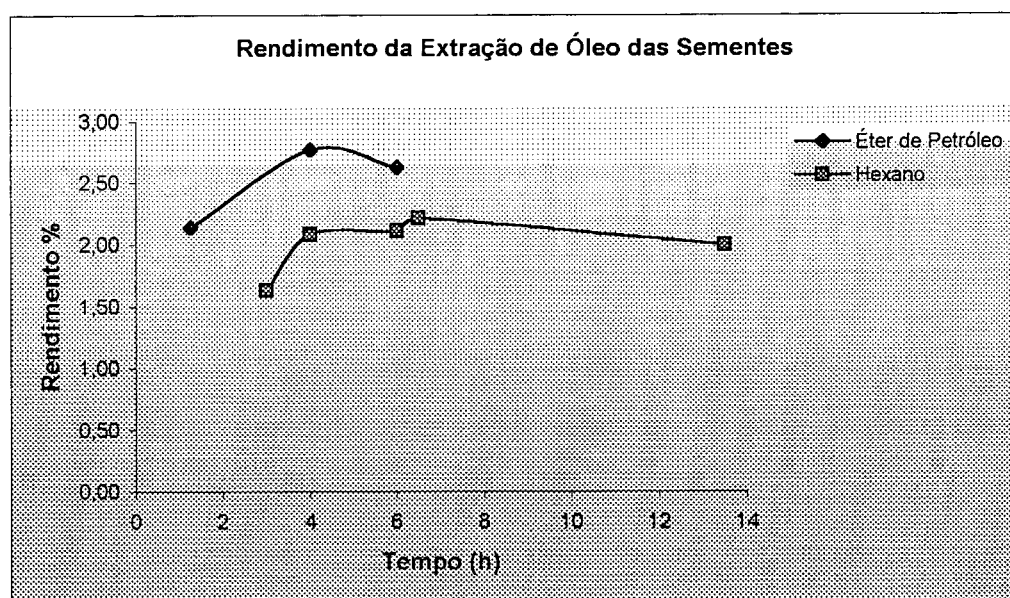


Figura 49 – Rendimento da Extração do Óleo das Sementes de Urucum – Sementes A

4.7.1 – Caracterização do Óleo das Sementes

Em análise realizada por cromatografia gasosa em amostra do óleo extraído das sementes de urucum (Figura 50), verifica-se a ocorrência dos ácidos graxos citados por SILVA (1999), conforme a Tabela 21, sendo que a amostra analisada não apresentou os ácidos cáprico e esteárico.

Tabela 21 - Composição em Ácidos Graxos do Óleo das Sementes

Ácidos Graxos Nome	Massa	Óleo da semente	
		% Massa	% Molar
Cáprico	172,27	10,706	16,145
Palmitico	256,43	16,411	16,626
Estearico	284,48	4,629	4,227
Oleico	282,47	33,919	31,195
Linoleico	280,45	34,336	31,806

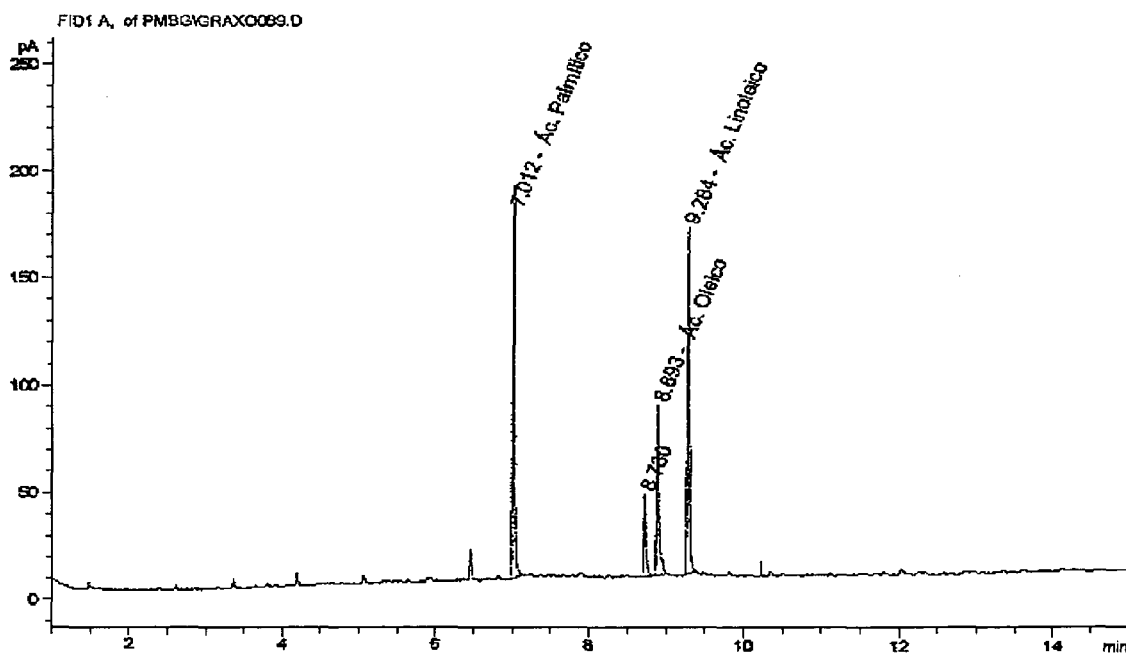


Figura 50 - Composição em Ácidos Graxos da Amostra de Óleo de Sementes de Urucum

A seguir serão apresentadas as principais conclusões obtidas neste trabalho, bem como sugestões para o desenvolvimento de trabalhos futuros.

5 – CONCLUSÃO E SUGESTÕES

Neste trabalho foram estudadas diversas rotas para a extração e purificação de corantes de urucum.

Os resultados deste trabalho indicam que a distribuição granulométrica das partículas de extrato de urucum na extração mecânica, utilizando moinho de bolas, não depende do tempo de estocagem das sementes. Já o percentual de norbixina extraído é em função deste tempo de estocagem, sendo que para menores tempos de estocagem, obtém-se maiores teores de norbixina no extrato. Este comportamento está em concordância com a literatura e se deve à instabilidade dos corantes principalmente à luz, temperatura e elevados teores de umidade.

A taxa de extração mecânica de bixina é superior a 3 vezes nas sementes com um ano de armazenamento do que nas sementes com 5 anos, correspondente a $0,189\% \text{ h}^{-1}$ e $0,052\% \text{ h}^{-1}$, respectivamente.

Na faixa granulométrica de 100-250 Mesh, é encontrado o maior percentual de norbixina no extrato, correspondendo a 9,35% para o lote *B* e 3,41% para o lote *A*. Nas frações granulométricas de maior tamanho de partícula, há presença de muitas partículas provindas da quebra das sementes. A quebra das sementes, não é desejada por gerar finas partículas de material celulósico que funcionam como impurezas do extrato obtido.

Pode-se então, afirmar que quanto maior for o tempo de residência das sementes no moinho de bolas, maior será a massa de extrato obtido. Após o processo de classificação das partículas, a fração de menor granulometria, entre 100 e 250 Mesh, é a que apresenta maior concentração de bixina. Portanto, quando se requer alto teor do corante, as outras faixas granulométricas necessitarão passar por outro processo de extração, por apresentarem baixos teores de bixina, o que ocasiona uma elevação de custo do processo.

A desvantagem deste processo de extração é o elevado tempo de processamento, aliado à necessidade de recuperação da massa de corante de urucum contida nas frações granulométricas de maior tamanho.

A extração mecânica, utilizando água como fase líquida, não apresentou uma variação significativa do teor de norbixina em função da granulometria do extrato obtido; no entanto os rendimentos mássicos obtidos foram muito baixos: 0,67% para o lote *C* e 5,53% para o lote *D*, correspondendo a teores de norbixina de 11,88% e 19,98%, respectivamente, considerando-se um tempo de agitação de duas horas para ambos os casos.

O tempo de agitação mostrou ser uma variável que interfere no processo, elevando o rendimento de extração de 4,86% para 14,83%, quando este passa de 2 para 4 horas. Um fato importante observado é que o percentual de norbixina do extrato não é afetado pelo tempo de agitação, sendo de aproximadamente 11% para o lote *C*.

A inclusão de uma etapa prévia de infusão das sementes, no processo de agitação mecânica, mostra-se benéfica tanto para o rendimento mássico quanto para o rendimento da extração do corante das sementes quando se utiliza água como fase líquida. Neste caso, o teor de norbixina no extrato para o lote *C* foi da ordem de 21%. A principal desvantagem da etapa de infusão seria o desenvolvimento de fungos para um tempo muito grande de processo.

No processo de extração por agitação mecânica, utilizando etanol como fase líquida, não há necessidade de uma etapa prévia de infusão das sementes, pois os resultados obtidos não mostraram incremento na eficiência do processo com o aumento do tempo de infusão.

A extração por agitação mecânica utilizando etanol como fase líquida mostrou-se mais eficiente em termos de tempo de processo do que a comparada com a extração utilizando água. Neste processo os rendimentos de extração obtidos foram de 79,18%, com um percentual de norbixina no extrato de 27,50% para o lote *D* e 32,06% para o lote *C*.

Pelos resultados obtidos, o processo de extração utilizando agitação mecânica com etanol foi o que apresentou um melhor desempenho para aplicação em processo industrial.

Conforme verificado na literatura, existe uma grande demanda de corante de urucum com elevada pureza, especialmente para usos na indústria de cosméticos, farmacêutica e alimentícia. Os resultados obtidos nas etapas de purificação foram satisfatórios, com teores de norbixina no produto purificado de 42,97%, sendo este teor equiparado ao teor do padrão de bixina utilizado.

No processo de purificação dos extratos de urucum, visando uma concentração maior do corante, a utilização do processo a quente, que envolve a solubilização do extrato em ácido acético glacial e posterior etapa de resfriamento, mostrou-se eficiente, onde obteve-se um rendimento de extração de 83,11% e mássico de 11,68%. Já no processo que envolve solubilização do extrato em meio alcalino e posterior precipitação com ácido, o rendimento da extração foi de 51,77% e o mássico foi de 26,98%. No processo utilizando GLP, verificou-se que a extração que ocorre é a do óleo contido no extrato, ocasionando um pequeno aumento na concentração em norbixina do extrato. Este processo de extração merece maiores estudos, como uma possível etapa que antecederia ao processo de purificação ou ainda, ao processo de extração, com o objetivo de remoção do óleo de urucum no concentrado ou nas sementes.

As extrações de óleo das sementes de urucum mostraram que, nas condições de processo, o rendimento passa a ser praticamente constante nas extrações acima de 4 horas, correspondendo a 2,35%.

Como sugestões para futuros trabalhos, poder-se-ia realizar a separação dos diversos corantes do urucum, incluindo os isômeros, através de técnicas cromatográficas.

Sugere-se ainda o desenvolvimento de novas rotas para a remoção do óleo do extrato de urucum, por processos que não levem à contaminação do produto.

Outro importante aspecto a ser investigado é a determinação da viabilidade econômica para a utilização industrial dos processos testados em escala laboratorial.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON S. G., NAIR M. G., CHANDRA A. & MORRISON E. Supercritical fluid carbon dioxide extraction of annatto seeds and quantification of *trans*-bixin by high pressure liquid chromatography. **Phytochemical Analysis**, Vol. 8, 247-249, 1997.
- BALIANE, A. Cultura do urucueiro. **Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado do Rio de Janeiro**, Niterói, 5-16, 1982.
- BARONCELLI F., OLIVEIRA L. S., FRANCA A. S. & PASSOS M. L. Evaluation of bixin thermal degradation during drying of annatto powder in spouted beds. **The Inter-American Drying Conference (IADC)**, Itu-SP, 158-164, 1997.
- BARRETO P. W., JAEGER L. M. e MASSARANI G. Produção de Concentrado de Bixina em Leito de Jorro III. **Anais do XVII ENEMP**, Vol. I, 205-208, 1989 **apud** SILVA G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- BHALKAR S. V. & DUBASH P. J. Methods of extraction of annatto from the seeds of *Bixa orellana*. **Indian J. Dairy Sci.**, 36, 2, 157-161, 1983.

- CARVALHO, P. R. N., SILVA, M. G. & MOREIRA, C. G. C. Avaliação dos Métodos Espectrofotométricos de Análise de Sementes de Urucum (*Bixa orellana* L.). **Coletânea ITAL**, Campinas, 23(2), 181-188, 1993.
- CARVALHO, P. R. N. Extração e Utilização do Corante de Urucum. **UESBA**, Vitória da Conquista, 69-76, 1990.
- CARVALHO, P. R. N. & HEIN M. Urucum – Uma Fonte de Corante Natural. **Coletânea ITAL**, Campinas, 19(1), 25-33, 1989.
- CARVALHO, P. R. N., SARANTÓPOULOS, C. I. G. L., SHIROSE, I. & SILVA, M. G.. Estudo de Vida-de-Prateleira do Corante (Bixina) Extraído das Sementes de Urucum (*Bixa orellana*, L.). **Coletânea ITAL**, Campinas, 23(1), 98-104, 1993.
- CASTRO M. S. Influência das Variáveis Operacionais no Processo de Secagem de Urucum. **Monografia DEQ/UFPA**, Belém, p.90, 1992 **apud** SILVA G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- DEGNAN A. J., VON ELBE J. H. & HARTEL R. W. Extraction of Annatto Seed Pigment by Supercritical Carbon Dioxide. **Journal of Food Science**, Volume 56, No. 6, 1655-1659, 1991.
- FALESI, I. C. Urucuzeiro: Recomendações Básicas para seu Cultivo. **UEPAE**, Belém, 1987.

- FARIA L. J. G. Análise Experimental do Processo de Secagem de Urucum (*Bixa orellana* L.) em Leito Fixo. **Tese de Doutorado em Engenharia Química**, FEQ/UNICAMP, Campinas, 1998 **apud** SILVA G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- FARIA L. J. G. & ROCHA S. C. S. Optimization of Annatto (*Bixa orellana* L.) Drying in Fixed Bed. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, Vol. 17, Nº 04-07, 483-495, December 2000.
- FOUST A. S. Princípios das Operações Unitárias. 2^a Ed., **Editora Guanabara Dois**, 1982.
- FREITAS L. A. P., SHUHAMA I. K., AGUIAR M. L. & OLIVEIRA W. P. Study of the Production of Annatto (*Bixa orellana*, L.) Powders using a Spouted Bed Dryer. **Comunicação Pessoal**, 2000.
- GOMIDE R. Operações Unitárias: Separação Mecânica. São Paulo, **Edição do Autor**, V.3, 1980.
- GUIMARÃES I. S., BARBOSA A. L. S. & MASSARANI G. Nota sobre a Produção de Concentrado de Bixina em Leito de Jorro. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, 12(2), 22-23, Abril, 1989.
- INGRAM J. S. & FRANCIS B. J. The Annatto Tree (*Bixa orellana* L.) – A Guide to its Occurrence, Cultivation, Preparation and Uses. **Tropical Science**, Volume XI, Nº 2, 97-102, 1969.

- IVERSEN S. e LAM J. Über den Farbstoff in Annato-butterfarben. **Z. Lebensm.-u.-Forsch.**, 97(1), 1-7, 1953 **apud** PRESTON H. D. & RICKARD M. D. Extraction and Chemistry of Annatto. **Food Chemistry**, Volume 5, No. 1, 47-56, 1980.
- JUNIOR W. P., MENDEZ A. L. C. & FARIA L. J. G. Análise da Influência das Variáveis Operacionais no Processo de Extração de Corantes de Sementes de Urucum (*Bixa orellana* L.): Projeto Fatorial de Experimentos. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, 2(1), 80-87, 1996.
- KATO O. R., FIGUEIRÊDO F. J. C., BELFORT A. J. L., NOGUEIRA O. L. & BARBOSA W. C. Época de Colheita de Sementes de Urucu: Emergência e Teor de Corantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 27(9), 1291-1302, setembro 1992.
- LANCASTER F. E. & LAWRENCE J. F. High-Performance Liquid Chromatographic Separation of Carminic Acid, α - and β -Bixin, and α - and β -Norbixin, and the Determination of Carminic Acid in Foods. **Journal of Chromatography A**, Volume 732, 394-398, 1996.
- MARMION D. M. **Handbook of U. S. Colorants: Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices**. Third Edition, USA, 120-122, 1991.
- MASSARANI G., PASSOS M.L. & BARRETO D. W. Production of Annatto Concentrates in Spouted Beds. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, Volume 70, 954-959, 1992.
- McKEOWN G. G. Paper Chromatography of Bixin and Related Compounds. **Journal of the A.O.A.C.**, Vol. 44, No. 2, 347-351, 1961.

- NAJAR S. V., BOBBIO F. O. & BOBBIO P. A. Effects of light, Air, Anti-oxidants and Pro-oxidants on Annatto Extracts (*Bixa orellana*). **Food Chemistry**, Vol. 29, No. 4, 283-289, 1988.
- NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos Químicos e Físicos. **O instituto**, 3^a Edição, 1985.
- PASSOS M. L., OLIVEIRA L. S., FRANCA A. S., FREITAS M. E. A., MASSARANI G. & BARROZO M. A. S. Spouted Bed Units for Annatto Powder Production. The **Inter-American Drying Conference (IADC)**, Itu-SP, 181-188, 1997.
- PIMENTEL F. A. Avaliação de Métodos de Obtenção e da Estabilidade de Pigmentos de Sementes de Urucum (*Bixa orellana* L.). **Tese de Mestrado em Engenharia de Alimentos**, DTS/UFV, Viçosa, 1995 **apud** SILVA G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- PINHEIRO N. F. L. L., SILVA G. F. e ALSINA O. L. S. Secagem de Urucum em Leito de Jorro. **Anais do XVIII Encontro sobre Escoamento em Meios Porosos**, Nova Friburgo, 389-399, 1990 **apud** SILVA G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- PRENTICE-HERNANDEZ C. & RUSIG O. Extrato de Urucum (*Bixa orellana* L.) obtido Utilizando Álcool Etílico como Solvente. **Arq. Biol. Tecnol.**, Campinas, 63-74, março, 1992.

- PRESTON H. D. & RICKARD M. D. Extraction and Chemistry of Annatto. **Food Chemistry**, Volume 5, No. 1, 47-56, 1980.
- REITH J. F. & GIELEN J. W. Properties of Bixin and Norbixin and the Composition of Annatto Extracts. **Journal of Food Science**, Volume 36, 1971.
- ROUSEFF R. L. High Performance Liquid Chromatographic Separation and Spectral Characterization of the Pigments in Turmeric and Annatto. **Journal of Food Science**, Volume 53, No. 6, 1823-1826, 1988.
- RUIZ H. V. & WOOD G. P. The Separation of Annatto Pigments by Sephadex. **Tropical Science**, Volume 13, No. 3, 211-214, 1971.
- SCOTTER M. J., THORPE S. A., REYNOLDS S. L., WILSON L. A. & STRUTT P. R. Characterization of the Principal Colouring Components of Annatto Using High Performance Liquid Chromatography with Photodiode-Array Detection. **Food Additives and Contaminants**, Vol. 11, No. 3, 301-315, 1994.
- SCOTTER M. J. Characterisation of the Coloured Thermal Degradation Products of Bixin from Annatto and a Revised Mechanism for their Formation. **Food Chemistry**, Vol. 53, No. 2, 177-185, 1995.
- SILVA G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- SILVA G. F., CAVALCANTI S. A. e SOBRAL M. C. Extração de Corantes do Urucum II. **Anais da Associação Brasileira de Química**, 43(1-2), 58-64, 1994 apud SILVA G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.

- SIMPSON K. I., GUIMARÃES I. S., e WILBERG V. C. Isolation and Purification of Bixin on a C-18 Reverse Phase Column. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Vol. 13, No. 2, 164-167, 1993.
- WHO/FAO. Specifications for the Identity and Purity of some Food Colours, Flavour Enhancers, Thickening Agents, and Certain Food Additives. **WHO Food Additives Series**, No. 7, 3-10, 1976.
- WILBERG V. C. e RODRIGUEZ-AMAYA D. B. Quantificação dos Carotenóides de Sementes do Urucum (*Bixa orellana* L) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, 1(1), 145-152, 1992 **apud** SILVA G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- YABIKU H. Y. & TAKAHASHI M. Y. Determinação de Bixina em Sementes de Urucum: Estudo Colaborativo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 52 (1/2), 31-36, 1992.

ANEXOS

Percentual de Norbixina em Base Seca e Percentual de Umidade das Sementes Utilizadas

Semente	% Norbixina em Base Seca	% Umidade
A	0,54	11,80
B	0,94	13,60
C	1,65	10,65
D	2,11	7,86

Onde:

A = Sementes com 5 anos de armazenamento

B = Sementes com 1 ano de armazenamento

C = Sementes com 3 meses de armazenamento

D = Sementes com 1 mês de armazenamento